

Aus der Arbeitsgruppe
„Biotechnischer Pflanzenschutz“
an der Professur für Organischen Landbau
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Bachelorarbeit

**Analytische Laboruntersuchungen zum
Freisetzungsverhalten von Sexualduftstoffen des westlichen
Maiswurzelbohrers *Diabrotica virgifera virgifera* aus
elektrogesponnenen Nanofasern**

vorgelegt dem

Fachbereich 09
„Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie und Umweltmanagement“
der Justus-Liebig-Universität Giessen
zur Erlangung des akademischen Grades des

Bachelor of Science Agrarwissenschaften

Moritz Schmidt

Betreuer: Herr Prof. Dr. Leithold
Zweitprüfer: Herr Prof. Dr. Hummel

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	3
Abkürzungsverzeichnis.....	6
1. Einleitung.....	8
1.1 Einsatz von Sexualduftstoffen zur Schädlingsbekämpfung.....	8
1.2 Ausgangspunkt und Ziel der Arbeit.....	9
2. <i>Diabrotica virgifera virgifera</i> LeConte	11
2.1 Zur Biologie von <i>Diabrotica v. virgifera</i>	11
2.2 Bekämpfung von <i>Diabrotica v. virgifera</i>	15
2.3 Chancen der Bekämpfung von <i>Diabrotica v. virgifera</i> mit der Verwirrungsmethode und dem Trägermaterial Nanofaser.....	17
3. Mechanische Ausbringung von Nanofasern im Mais.....	18
4. Material und Methoden.....	21
4.1 Elektrosinnen von Nanofasern.....	21
4.2 Bestimmung der Pheromonabgaberate mittels Gravimetrie.....	24
4.3 Closed-Loop-Stripping-Analysis (CLSA).....	26
4.4 Gaschromatographie.....	28
4.5 Nachweis- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholungsbedingungen.....	31
4.6 Verwendete Geräte und Hilfsmittel.....	32
5. Ergebnisse und Diskussion.....	34
5.1 Auswertung der gravimetrisch ermittelten Pheromonabgaberate.....	34
5.2 Auswertung der Ergebnisse: Windkanal/CLSA/GC- Analyse.....	37
5.3 Vergleich der Wägungs- und CLSA/GC – Ergebnisse.....	39
5.4 Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze.....	42
5.5 Vergleich der unterschiedlichen Nanofaservliese.....	42
6. Fazit.....	44
7. Ausblick.....	45
8. Zusammenfassung.....	46
Literaturverzeichnis.....	48
Danksagung.....	56
Erklärung.....	57

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1:** Veranschaulichung der morphologischen Unterschiede des weiblichen (links) und männlichen (rechts) Westlichen Maiswurzelbohrers.
- Abb. 2:** Die vergrößerte Darstellung zeigt das Ei (links) und das 3. Larvenstadium (rechts) des Westlichen Maiswurzelbohrers.
- Abb. 3:** Schadbilder von *Diabrotica v. virgifera*., „Gänsehals“-Syndrom (oben links), starker Wurzelfraß (oben rechts), Narbenfädenfraß (unten links), Körnerfraß (Mitte) und Fensterfraß (unten rechts).
- Abb. 4:** Abbildung der zeitlichen Entwicklungsstadien des Westlichen Maiswurzelbohrers sowie der Zeitraum der Schädigung des Maises.
- Abb. 5:** Zeitraum der Pheromonabgabe, der Flugperiode des Käfers und der maschinellen Ausbringung der Nanofasern im Vergleich zu den Reifestadien (BBCH-Code) des Maises.
- Abb. 6:** Schematische Darstellung des Elektrosinnens; Mit Hilfe von Hochspannung entspringt aus dem Tröpfchen der Polymerlösung am Spritzenende ein feiner Jet bzw. eine Nanofaser (modifiziert nach GREINER & WENDORFF 2007).
- Abb. 7:** Die Polymerlösung setzt sich aus Ecoflex®, Pheromon und Lösungsmittel zusammen.
- Abb. 8:** Darstellung der kleinen Elektrosinnanlage der Universität Marburg mit Vergrößerung und Beschriftung der einzelnen Bauelemente.

- Abb. 9:** Aufbau des Windkanals am Gladbacherhof (links) und Vergrößerung von im Windkanal hängenden Faserproben mit Käfig (rechts).
- Abb. 10:** Abbildung der Feinwaage (links), Wägung der Nanofaserprobe *ohne* (Mitte) und Wägung der Nanofaserprobe *mit* Käfig (rechts).
- Abb. 11:** Aufbau der „Closed-Loop-Stripping-Analysis“-Apparatur, sowie Beschriftung der einzelnen Bauelemente und Darstellung der Richtung des Luftstromes mit Hilfe der weißen Pfeile.
- Abb. 12:** CLSA: Aufbau (links) und Veranschaulichung (rechts) des Elutionsvorgangs.
- Abb. 13:** Autosampler-Proben-Gläschen, Mikrolitereinsatz, Feder und Bördelkappe (links) und Vorgang der Spülung der Filter mit einer 500 µL-Spritze (rechts).
- Abb. 14:** Abbildung einer Gaschromatographie-Apparatur in ihren einzelnen Bauteilen: 1. Gaszylinder mit Trägergas (Stickstoff), 2. Pumpe (Pressluft), 3. Injektionssystem (automatischer Probengeber), 4. Temperatur programmierbarer Ofen, 5. kapillare Trennsäule, 6. Detektor und Verstärker, 7. Chromatogramm.
- Abb. 15:** Gaschromatogramm mit eingezeichneten Kenngrößen.
- Abb. 16:** Vergleich der unterschiedlichen Nanofasern anhand der Pheromonabgaberate im Windkanal in [mg/mg Probe und Tag]
- Abb. 17:** Darstellung der Pheromonabgaberate einer CLSA-Startprobe bestehend aus einer ohne Salz gesponnenen Nanofaser.
- Abb. 18:** Vergleich der beiden Untersuchungsmethoden; Wägung nach Windkanalversuch und CLSA mit anschließender GC-Analyse.
- Abb. 19:** Vergleich der mittleren Pheromonabgaberationen einer CLSA-

Startprobe mit den Wägungsergebnissen von Messtag 3 (Nanofaser ohne Salz).

Abb. 20: Die berechnete Pheromonabgaberate für Tag 2 und 3 ergibt sich aus der Differenz der CLSA-Startprobe (Tag 1) und dem dreifachen Wägungsergebnis von Tag 3.

Abb. 21: Die digital mikroskopische Abbildung einer, mit 0,5 % Benzyltriethylammoniumchlorid (Salz) gesponnenen, Nanofaser.

Abb. 22: Die digital mikroskopische Abbildung einer ohne Salz gesponnenen Nanofaser.

Abb. 23: Stelzenschlepper der Marke Dammann-trac DT 2000H Plus „Highlander“ mit einer Unterbodenfreiheit von ca. 2 m.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BBCH	Code für Reifestadium von Kulturpflanzen (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie)
BMELV	Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
<i>Bt</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
°C	Grad Celsius
CLSA	Closed-Loop-Stripping Analysis
DMK	Deutsches Maiskomitee
EG	Europäische Gemeinschaft
EP	Europäisches Parlament
EU	Europäische Union
FID	Flammenionisationsdetektor
g	Gramm
GC	Gaschromatographie/ Gaschromatogramm
ha	Hektar
JKI	Julius Kühn-Institut
kg	Kilogramm
kV	Kilovolt
LFL	Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft
LWK	Landwirtschaftskammer
m	Meter
min	Minute
mL	Milliliter
µL	Mikroliter
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
ng	Nanogramm
nm	Nanometer

NRW	Nordrhein-Westfalen
OIV	Internationale Organisation für Rebe und Wein
U	Umdrehung
%	Prozent

1. Einleitung

1.1 Einsatz von Sexualduftstoffen zur Schädlingsbekämpfung

Sexualduftstoffe sind intraspezifische Botenstoffe, die von Individuen ein- und derselben Art produziert und wahrgenommen werden (KARLSON & LÜSCHER 1959). Zahlreiche Verhaltensweisen und Interaktionen von Insekten werden über Pheromonduftstoffe gesteuert. Bekannt sind Aggregations-, Alarm-, Spur-, kastendeterminierende und eiablagehemmende Pheromone. Entscheidend für die Vermehrung von Insekten sind Sexualpheromone, die der Auffindung und Identifikation des Sexualpartners dienen. Somit ist die Entschlüsselung artspezifischer Sexualpheromone Ansatzpunkt zur Regulierung von Schadinsekten (SANDERS 1995). Die gezielte Erforschung begann mit der Beschreibung des Sexualpheromons des Seidenspinners, *Bombyx mori*, am Max-Planck-Institut für Biochemie in München (BUTENANDT et al. 1959). Unmittelbar nach der Identifikation des Seidenspinnerpheromons wurde die gezielte Entwicklung von Pheromonen zur Insektenbekämpfung gefördert (BABSON & WRIGHT 1963, JACOBSON & BEROZA 1963, WRIGHT 1964 a & b, WRIGHT 1965, GASTON et al. 1967, SHOREY & McKELVEY, Jr. Eds. 1977). Während sich die Pheromonforschung in den folgenden Jahren überwiegend auf wichtige Lepidopteren konzentrierte, macht derzeit die Identifikation von Pheromonen anderer Insektengruppen rasche Fortschritte (HARDIE & MINKS 1999). Grund hierfür sind die erkannten Vorteile eines Pheromoneinsatzes gegenüber einer chemischen Bekämpfung (GASTON et al. 1977, HOWSE et al. 1998). Der Einsatz geringer Wirkstoffmengen aufgrund hoher physiologischer Effektivität, einer fehlenden Rückstands- und Resistenzproblematik (HUMMEL 1983, WITZGALL & SCHLYTER 2005, EP 2009¹) sowie die selektive Bekämpfung des Schädlings (BASF 2008, BMELV 2010) sind Gründe für die Intensivierung und Erweiterung der Forschung auf dem Gebiet des Pheromoneinsatzes gegen Schadinsekten.

¹<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:309:0071:0086:DE:PDF>

1.2 Ausgangspunkt und Ziel der Arbeit

Die Konfusionsmethode, bei dem durch den Einsatz natürlicher Duftstoffe (Sexualpheromone) die Vermehrung von Schadinsekten verhindert wird, ist als hochspezifische, umweltverträgliche und nicht-toxische Alternative zum chemischen Pflanzenschutz oder als dessen Ergänzung im Sinne des integrierten Pflanzenschutzes zu betrachten (GASTON et al. 1977), Howse et al. (1998). Sie ist in Sonderkulturen (z.B. im Weinbau) etabliert und wird sowohl von konventionell als auch von biologisch wirtschaftenden Landwirten angewendet (LANGE 2002, MINKS 1997, WITZGALL & SCHLYTER 2005, BREUER & WEGNER-KISS 2007). Im Weinbau legt die biotechnische Bekämpfung der bedeutendsten Weinbauschädlinge Einbindiger Traubenwickler (*Eupoecilia ambiguella*) und Bekreuzter Traubenwickler (*Lobesia botrana*) die Grundlage für ein insektizidfreies Bewirtschaftungssystem (LINDNER 2009).

Der erfolgreiche Einsatz dort hat zu der Überlegung geführt, ob die Möglichkeit der Regulation von anderen Schadinsekten durch Pheromone besteht. Dadurch könnten die Anwendung konventioneller chemischer Insektizide und die damit verbundenen negativen externen Effekte, z.B. Befunde von Pflanzenschutzmittel-Wirkstoffen und deren Metaboliten im Trinkwasser (KOWAL et al. 2009), Resistenzentwicklungen (PEDIGO & RICE 2009) und negative Auswirkungen auf die Biodiversität (GEIGER et al. 2010) reduziert werden. Dagegen spricht jedoch die Notwendigkeit der manuellen Verteilung der Pheromone als wesentlicher Nachteil des bisher praktizierten Verwirrungsverfahrens. Daher ist die Entwicklung von technischen Lösungen zur mechanischen Applikation von Sexualpheromonen notwendig, um deren Anwendungsmöglichkeiten zu erweitern und die Verfahrenskosten, insbesondere durch die Einsparung von Handarbeit, zu senken.

Hinsichtlich dieser Notwendigkeit wird im Rahmen des Innovationsförderungsprogramms des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV 2010) eine neuartige Applikationsmethode entwickelt, bei der Nanofasern als Trägermaterial für die Duftstoffe dienen. Die maschinelle Ausbringung pheromonhaltiger, elektrogesponnener Polymerfasern würde eine homogene Pheromonverteilung im Feld ermöglichen, was an die Möglichkeit der Reduktion der Pheromon-

aufwandmenge denken lässt. Die prinzipielle Eignung von pheromonhaltigen, elektrogesponnenen Nanofasern als Verwirrungsdispenser wurde im Rahmen des o.g. Forschungsvorhabens am Modellsystem der Traubenwicklerregulation nachgewiesen (persönl. Mitteilung Hein, Universität Gießen). Da sich die Strukturen der Insektenpheromone und somit auch deren chemische und physikalische Eigenschaften unterscheiden, ist jedoch unsicher, ob dies auch für andere Schadinsekten gilt. Daher sind dementsprechende Untersuchungen erforderlich.

Ein Schadorganismus, den es in diesem Zusammenhang zu betrachten lohnt, ist der Westliche Maiswurzelbohrer *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). Die weltweite Anbaufläche von Mais birgt mit 157 Mio. ha (DMK 2008) ein sehr großes Anwendungsfeld für die Insektenverwirrung. Weiterhin unterstreicht die zunehmende Gefahr der Resistenzbildung des Westlichen Maiswurzelbohrers gegenüber chemischen Wirkstoffen die Notwendigkeit, alternative Regulierungsstrategien zu entwickeln (HUMMEL 2003, HUMMEL et al. 2006).

Mit der Methode des Elektrosinnens ist zukünftig die Möglichkeit der mechanisierten, flächigen Verteilung von Pheromonen auf dem Feld gegeben. Die Entwicklung eines zum Elektrosinnen geeigneten Polymersystems ist die Grundlage für eine spätere Anwendung von Nanofaser-Pheromon-Dispensern in der Praxis. Die maschinelle Ausbringung der Pheromone im Mais ist der Orientierungsmaßstab hinsichtlich der Beurteilung der neu entwickelten Fasersysteme. Dabei ist der Zeitpunkt der Ausbringung und die notwendige Wirkungsdauer des Dispensers von Bedeutung.

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgen Untersuchungen des Polymersystems „Ecoflex® + Dichlormethan + *Diabrotica virgifera virgifera*-Pheromon“ in zwei Variationen hinsichtlich dessen Verspinnbarkeit zu Polymerfaservliesen sowie zum Pheromon-Abgabeverhalten der gesponnenen Fasern im zeitlichen Verlauf. Welches der beiden Systeme eher den zuvor festgestellten Ansprüchen entspricht, wird mit Hilfe der Analysentechnik „Windkanal-Wägung“ und „Windkanal-CLSA-GC“ ermittelt.

2. *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte

2.1 Zur Biologie von *Diabrotica v. virgifera*

Vorkommen und Ausbreitung

Der Ursprung des Westlichen Maiswurzelbohrers liegt in Mittelamerika (Mexiko, Costa Rica, Nicaragua und Guatemala). Im Westen Kansas wurde der Käfer erstmals 1865 von LeConte beschrieben (Krysan & Smith 1987). Zu dieser Zeit ist er in Nordamerika (Colorado, Nebraska und Kansas) nur vereinzelt in Maisfeldern anzutreffen. Das Erreichen des Maisgürtels der USA mit Monokulturanbau (Illinois, Iowa, Indiana und angrenzendes Kanada) führte zu einer explosionsartigen Vermehrung und beachtlichen wirtschaftlichen Schäden. Nicht ohne Grund bekam er den Beinamen „1 Billion Dollar Bug“. Die Einschleppung nach Europa erfolgte mit hoher Wahrscheinlichkeit mit Flugzeugen aus Nordamerika (ALBERT, HARMUTH & IMGRABEN 2004), wobei fünf Einschleppungsepisoden mit molekulargenetischen Methoden differenzierbar sind (CIOSI et al. 2008). Mittels eigener Mobilität verbreitete er sich rasch von Serbien (1992) aus nach Ungarn (1995), Kroatien (1995), Rumänien (1996), Bosnien-Herzegowina (1997), Bulgarien (1998), Montenegro (1998), Slowakei (2000), Italien (2002), Ukraine (2001), Österreich (2002) und Tschechien (2002). Die Käfer sind in der Lage, bei natürlicher Ausbreitung bis zu 80km und bei der Durchführung von Begrenzungsmaßnahmen 0-37km pro Jahr zurückzulegen (HARMUTH 2008). Den Sprung nach Italien (1998), die Schweiz (2000) und Frankreich (2002) schaffte er wieder mit Transportmitteln. Im Jahr 2003 konnte er auch in den Niederlanden, Belgien und Großbritannien festgestellt werden (Pflanzenschutzdienst Baden-Württemberg 2004). In Deutschland trat er erstmals 2007 im Landkreis Passau sowie im Bodenseegebiet und im Rheintal von Baden-Württemberg auf (ZELLNER 2008, HARMUTH 2008). 2010 wurden 22 Exemplare in Lockstofffallen im Kreis Emmendingen und der Ortenau (Baden-Württemberg) gefangen (DER SONNTAG 2010). In Bayern sind es sogar 57 Fänge, die überwiegend im Landkreis Passau und Regensburg gezählt wurden (LFL 2010). Aber auch am Flughafen Köln-Wahn wurden erstmals 2010 etwa 10 Käfer gefangen (LWK NRW 2010).

Dies veranlasst die Behörden dazu, das Monitoring der Felder zu intensivieren, Quarantänezonen auszuweisen und gegebenenfalls die Äcker mit Insektiziden zu behandeln. Dadurch ist der Befall bezogen auf Deutschland bisher eher noch punktuell. Eindeutig größeren Schaden richtet der Westliche Maiswurzelbohrer in Jugoslawien, Bosnien-Herzegowina, Kroatien, Rumänien und Ungarn an. Insbesondere in Norditalien ist der Befall inzwischen flächenhaft. Weltweit wird der Befall auf 20 Mio. ha geschätzt (BAUFELD et al. 2006).

Morphologie

Diabrotica virgifera virgifera LeConte zählt zur Familie der Blattkäfer (*Chrysomelidae*). Der Käfer hat eine Länge von 4,2 bis 6,8 mm, der Kopf ist dunkel, Halsschild und Abdomen sind gelb, während die Beine gelb oder dunkel sein können. Das etwas größere Weibchen ist gekennzeichnet durch drei dunkle Längsstreifen auf den Deckflügeln. Die Deckflügel der Männchen sind nahezu vollständig dunkel. Zudem sind Männchen generell dunkler und besitzen längere Fühler als die Weibchen. Der äußere Flügelrand bleibt stets gelb (Abb.1). Jedoch sind dies zur Geschlechterdifferenzierung nur grobe Anhaltspunkte, da die Deckflügel-Pigmentierung variabel und deshalb als Indikator weniger zuverlässig ist. Besser geeignet sind eindeutige Merkmale, wie zum Beispiel die Zahl der Antennenglieder, die beim Männchen stets ein Glied mehr zählen als bei den Weibchen.



Abb.1: Veranschaulichung der morphologischen Unterschiede des weiblichen (links) und männlichen (rechts) Westlichen Maiswurzelbohrers.²

Die weißen, ovalen Eier sind ca. 0,3 bis 0,4 mm lang. Im letzten der 3 Lar-

² <http://diabrotica.jki.bund.de/index.php?>

venstadien erreicht die Larve eine Länge von ca. 1,3 cm. Sie ist weiß, besitzt eine braune Kopfkapsel und einen braunen Chitinschild am Hinterleib (Abb.2).



Abb. 2: Die vergrößerte Darstellung zeigt das Ei (links) und das 3. Larvenstadium (rechts) des Westlichen Maiswurzelbohrers.³

Fortpflanzung

Von Juli bis September legen die Weibchen insgesamt zwischen 500 und 1.000 Eier ab. Diese teilen sich auf einzelne Gelege auf, die aus ca. 80 Eiern bestehen und werden in einer Bodentiefe von 5 bis 20 cm am Fuß einer Maispflanze abgelegt. *Diabrotica v. virgifera* bringt in Deutschland eine Generation pro Jahr hervor. Die Eier überwintern in den Gelegen in Form einer Diapause. In Abhängigkeit von der Temperatur schlüpfen Anfang bis Mitte Juni die Larven und durchlaufen innerhalb von 4 bis 5 Wochen 3 Larvenstadien. Die Puppenruhe dauert eine Woche bis schließlich Mitte Juli die adulten Tiere schlüpfen. Im August erreicht die Population ihren Höhepunkt. Nach 12-tägigem Reifungsfraß und erfolgreicher Begattung kommt es zur erneuten Eiablage, womit der Fortpflanzungszyklus geschlossen ist.

Schadbild

Den Hauptschaden an den Maispflanzen verursachen die Larvenstadien. Die Larven des 1. und 2. Stadiums ernähren sich von den Wurzelhaaren. Die Larven des 3. Stadiums bohren sich in größere Wurzeln sowie in den Stän-

³ <http://www.ages.at/ages/landwirtschaftliche-sachgebiete/pflanzengesundheit/maiswurzelbohrer/schadorganismus/>

gel, wodurch sich der deutsche Name Westlicher Maiswurzelbohrer herleitet. Derartige Fraßschäden führen zu einer verringerten Wasser- und Nährstoffaufnahme. Eine weitere Folge starker Wurzel- und Stängelschäden ist die Lagerbildung, da die Standfestigkeit der Pflanze bei Sturm nicht mehr ausreichend ist. Unter feuchten Bedingungen richtet sich die Pflanze wieder auf („Gänsehals“) (Abb.3). Es ist jedoch trotzdem mit hohen Ertragseinbußen zu rechnen.

Die Käfer fressen überwiegend Narbenfäden, Blätter, Pollen und milchreife Körner. Eine starke Beschädigung der Narbenfäden verringert die Kornausbildung, wovon hauptsächlich die Saatgut- und Körnermaiserzeugung betroffen ist (Abb.3).



Abb. 3: Schadbilder von *Diabrotica v. virgifera*: „Gänsehals“-Syndrom (oben links), starker Wurzelfraß (oben rechts), Narbenfädenfraß (unten links), Körnerfraß (Mitte) und Fensterfraß (unten rechts).⁴

⁴http://www.lfl.bayern.de/ips/blattfruechte_mais/30839/index.php

2.2 Bekämpfung von *Diabrotica v. virgifera*

Maßnahmen gegen eine Ausbreitung in bisher befallsfreie Regionen

Aufgrund der Ausbreitung und Einschleppung des Schädlings in bisher befallsfreie Regionen verfasste die EU durchzuführende Sofortmaßnahmen. Nach der Richtlinie 2003/766/EG und Ergänzung durch Artikel 4a und 4b der Richtlinie 2006/564/EG sind folgende Punkte verpflichtend:

- Eine Meldepflicht bei Auftreten, ein amtliches Monitoring sowie die Errichtung einer dreijährigen Befalls- und Sicherheitszone.
- Innerhalb der Befallszone besteht ein Verbringungsverbot der Maispflanzen und der Erde.
- Die Einhaltung bestimmter Fruchtfolgen und die Bekämpfungsmethode im Befallsjahr sind vorgeschrieben.
- Der folgende Maisdurchwuchs muss vernichtet werden.
- Für die Sicherheitszone gilt eine zweijährige Fruchtfolge oder Bekämpfungsmaßnahmen im Befalls- und Folgejahr.
- Nach Artikel 4b darf an Risikoflugplätzen kein Mais angebaut oder es muss ein intensives Monitoring mit Pheromonfallen durchgeführt werden.
- Die EU Richtlinie 2006/565/EG Artikel 4a beschreibt weitere Eingrenzungsempfehlungen. Um bundesweit eine einheitliche Bekämpfungsstrategie gegen den Westlichen Maiswurzelbohrer anzuwenden, verabschiedete Deutschland eine Leitlinie mit amtlichen Maßnahmen (JKI 2006).

Bekämpfungsmöglichkeiten

Es gibt verschiedene Ansätze, um gegen den Westlichen Maiswurzelbohrer vorzugehen. Mit Hilfe eines gentechnischen Verfahrens wurde die genetische Information zu Herstellung eines des aus *Bacillus thuringiensis* stammenden Proteins in den Mais übertragen. Die veränderten

Pflanzenzellen produzieren nun die für die Fraßinsekten giftigen Wirkstoffe. Die angegebene spezifische Wirkung allein auf das Schadinsekt ist nicht vollständig nachgewiesen (MERTENS 2006). Eine mögliche schädliche Auswirkung auf Umwelt und Biodiversität sind Ursache für das Anbauverbot von *Bt*-Mais in Deutschland. Zudem besteht die Gefahr einer Resistenzbildung durch die permanente Präsenz des Toxins in der Wirtspflanze. Als Alternative zum Einsatz von GMO bietet sich die Einhaltung einer Fruchtfolge an. Dadurch wird dem Schädling seine Nahrungsgrundlage entzogen. Eine Starke Populationsentwicklung kann nur durch eine Mais-Monokultur erfolgen. Somit stellt die Fruchtfolge eine sehr effektive Bekämpfungsstrategie dar (BERTOSSA 2009). Allerdings zieht der Maisausfall für mindestens 2 Jahre bei vielen Landwirten entweder einen erheblichen wirtschaftlichen Schaden nach sich oder macht umfangreiche Planungen über den Austausch von Futtermais auf regionaler Basis nötig. Vor kurzem machte eine neue Methode auf sich aufmerksam, die sich die Anlockung natürlicher Prädatoren zu Nutze macht. Der Duftstoff β -Caryophyllen, der bei Fraßschäden an der Maispflanze ausgeschieden wird, lockt Fadenwürmer an (MPG 2005), die natürliche Feinde von *Diabrotica v. virgifera* sind. Aufgrund jahrelanger Hochleistungszüchtung unter Vernachlässigung natürlicher Resistenzmechanismen ging diese Fähigkeit des kultivierten Maises verloren und soll nun mittels transgener Technik wieder in den Mais eingebracht werden (DEGENHARDT 2010). Allerdings müsste der Einsatz solcher GMO-Maissorten in der Praxis, wie auch bei *Bt*-Maissorten, zugelassen werden.

Beim Bestreben, innerhalb der angeführten Möglichkeiten gegen den Westlichen Maiswurzelbohrer vorzugehen, bestehen noch erhebliche Mängel, die mit dem Einsatz von Insektiziden kompensiert werden sollen. Die Abtötung von Nützlingen (beispielsweise das Bienensterben im Jahr 2008 (MARESCH 2008)), Rückstandsprobleme und sehr hohe Kosten gehen mit Insektizideinsätzen einher. Über eine Milliarde US-Dollar in den USA und ca. 300 Millionen Euro in Europa an Schaden und Pflanzenschutz aufwendungen verursacht der Westliche Maiswurzelbohrer jährlich (BAUFELD et al. 2006). Diese immense Summe und die bisher nicht zufrieden stellenden Bekämpfungstechniken sind der Grund für die Notwendigkeit der

Erforschung innovativer biotechnischer Regulationsmethoden für dieses Schadinsekt.

2.3 Chancen der Bekämpfung von *Diabrotica v. virgifera* mit der Verwirrungsmethode und dem Trägermaterial Nanofaser

Die erfolgreiche Einführung innovativer Pflanzenschutzverfahren in der Praxis ist unter anderem von den Verfahrenskosten abhängig, die mit denen der etablierten Methoden verglichen werden. Die industrielle Synthese des Pheromons des Apfelwicklers *Cydia pomonella* bsp. sank von 10.000 €/kg (1971) auf ca. 200 €/kg innerhalb eines Jahrzehnts, da eine entsprechend hohe Nachfrage die Weiterentwicklung förderte (YAMAMOTO & OGAWA 1989). Die Kosten werden auch durch den Aufwand bei der Synthese beeinflusst. Die Synthese von Strukturen mit mehreren Doppelbindungen ist aufwendiger als die Herstellung eines Wirkstoffs mit nur einer Doppelbindung und führt damit zu einem höheren Preis. Die Möglichkeit der sehr günstigen Pheromonsynthese ist ein entscheidender Vorteil im Vergleich zu dem kostenaufwendigen Prozess der Insektizidentwicklung und -produktion. Zudem ist eine Resistenzbildung, durch welche oftmals Insektizide wirkungslos werden, nahezu auszuschließen, weil Pheromone auf Verhaltensreaktionen, *nicht* auf biochemische Stoffwechselvorgänge wirken. Verhaltensreaktionen aber stehen unter der Kontrolle vieler gleichzeitig wirkender Gene, die nach den Gesetzen der statistischen Wahrscheinlichkeit sich nicht alle in die selbe Richtung gleichzeitig verändern können. Die großflächige Anwendung von Pheromonen auf Mais- oder Baumwollfeldern erfordert eine maschinelle Ausbringung des Wirkstoffes. Elektrogesponnene Nanofasern, hergestellt aus einer Spinnlösung aus Polymer, Lösungsmittel und Pheromon, bieten neben der Möglichkeit der Mechanisierbarkeit weitere Vorteile. Nanofasern sind mindestens in einer Dimension kleiner als 100 nm⁵. Diese besondere Eigenschaft des Volumen-Oberflächen-Verhältnisses wird als ein entscheidender Vorteil gegenüber handelsüblichen Dispensern angesehen, da die vielfach größere Oberfläche der Nanofasern auf eine lückenlose und konstante Pheromonwolke zur optimalen Paarungsstörung hoffen lässt. Die

5 Die hier verwendeten Nanofasern haben durchschnittliche Durchmesser von 600-1400 Nanometer, werden aber im physikalisch metrischen Sinne als Nanofasern bezeichnet.

Wetterbeständigkeit und die Bioerodierbarkeit organischer Nanofaservliese sind weitere positive Attribute. Besonders in dem anhaltenden Trend nach biologischen, gesunden, nachhaltig und ethisch korrekt produzierten Lebensmitteln besitzt die Verwirrungsmethode mit dem Trägermaterial Nanofaser großes Potenzial. Somit könnte die effiziente, hoch spezifische und umweltfreundliche Verwirrmethode konkurrenzfähiger gegenüber Breitbandinsektiziden werden (HEIN et al. 2009).

3. Mechanische Ausbringung von Nanofasern im Mais

Seinen Ursprung hat der Mais in Südbrasilien, NO Bolivien und Paraguay. Als Domestikationsort gilt Peru und Mexiko. Mais wurde rasch zu einer der wichtigsten „Neuweltpflanzen“ und verbreitete sich über den ganzen Erdball. Als Hybrid stark in Leistung verbessert und an Langtagverhältnisse angepasst liegt der Schwerpunkt im Maisanbau heute auf Silo- und Körnermais. Um eine Verwirrungsmaßnahme mittels des Maiswurzelbohrerpheromons ökonomisch vertretbar durchzuführen, ist eine maschinelle Ausbringung der Nanofasern unumgänglich. Der maschinelle Bearbeitungszeitraum mit handelsüblichen Schleppern ist bis zum BBCH-Stadium 32-34 (2. Stängelknoten wahrnehmbar), bei welchen der Mais die Höhe von ca. 50 cm erreicht hat, begrenzt (KOSTER 2010). Zeitlich beläuft sich dieser letztmögliche Ausbringungszeitraum auf Ende Juni bis Mitte Juli. Für eine genaue Definition der Zeitspannen, in denen das Pheromon abgegeben werden soll, muss der Zeitpunkt der Ausbringung sowie Flugbeginn und -dauer des Maiswurzelbohrers bekannt sein. Da die Verwirrmethode sich einzig auf die Paarungsstörung bezieht, ist nur die Flugperiode der adulten Käfer von Interesse. Diese beginnt etwa Ende Juni und endet Anfang Oktober (WAGNER & ZELLNER 2009), wie in Abbildung 4 dargestellt.



Abb. 4: Abbildung der zeitlichen Entwicklungsstadien des Westlichen Maiswurzelbohrers sowie der Zeitraum der Schädigung des Mais.⁶

Beim Vergleich der Zeiträume von Ausbringung und Abgabe während der Flugperiode sind die Anforderungen an das Nanofaserpräparat für eine optimale Verwirrung abzulesen (Abb.5).

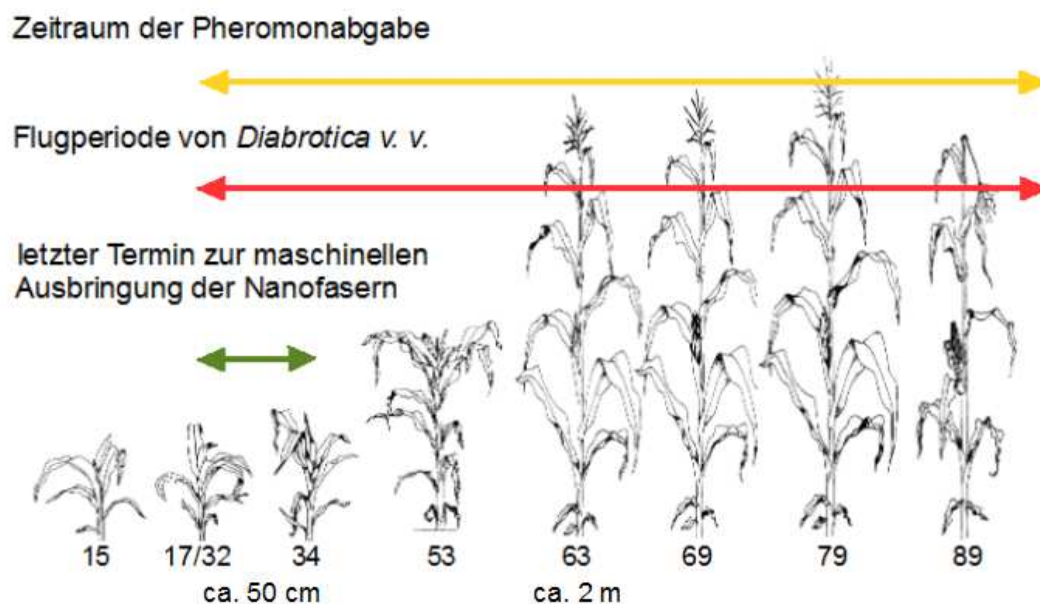


Abb. 5: Zeitraum der Pheromonabgabe, der Flugperiode des Käfers und der maschinellen Ausbringung der Nanofasern im Vergleich zu den Reifestadien (BBCH-Code) des Mais.

⁶ <http://diabrotica.jki.bund.de/index.php?menuid=19>

Die Fasern sollten Ende Juni, zum Flugbeginn des Westlichen Maiswurzelbohrers, ausgebracht werden. Anschließend sollte eine konstante Abgabe des Pheromons vom Zeitpunkt der Ausbringung Ende Juni bis zur Ernte Ende September stattfinden, so dass möglichst die vollständige Flugperiode des Käfers abgedeckt ist. Dieser wünschenswerte Optimalfall ist allerdings bisher nur Theorie. Zudem verschieben zahlreiche klimatische Parameter den Zeitraum sowohl der Ausbringung als auch der Flugperiode. Faktoren wie Wärmeansprüche, Sonnenscheindauer, Niederschlagsverteilung und Empfindlichkeit gegen Wind beeinflussen das Wachstum des Maises und somit den letztmöglichen Termin, um maschinell im Feld tätig zu sein. Eine weitere Rolle spielt hierbei die unterschiedliche Reifezeit der Maissorten, die über die FAO-Zahl beschrieben wird. Der Mais wird in 9 Reifegruppen von 100-900 unterschieden, wobei die Hunderterstelle die Reifegruppe, die Zehnerstelle eine weitere Unterteilung in der Reifegruppe und die Einerstelle die Farbe angibt. In Deutschland ist dies immer eine 0 für ein gelbschaliges Korn. Die Differenz von 10 Reifeeinheiten entspricht unter europäischen Bedingungen einem Reifeunterschied von 1-2 Tagen oder einem Trockensubstanzunterschied von 1-2 % (HEYLAND 1996). Inwieweit sich dieser Reifeunterschied auf den Ausbringungstermin auswirkt, kann nicht konkret beschrieben werden, da je nach Region, Klima und Landschaft verschiedene FAO-Zahlen zum Tragen kommen.

Wie schon die Wachstumsrate des Maises ist auch die Vermehrung bzw. der Schlupftermin der adulten Käfer des westlichen Maiswurzelbohrers von abiotischen Faktoren wie Trockenheit, Temperatur und Bodeneigenschaften abhängig (TÖPFER & KUHLMANN 2005). Daraus wird ersichtlich, dass Prognosemodelle, wie sie z.B. zur Prognose des Auftretens von Traubenvicklern im Wein erfolgreich angewandt werden, einen wesentlichen Bestandteil der Regulationsstrategie von *Diabrotica v. virgifera* mit Pheromonen darstellen.

Das System Polymer, Pheromon und Lösungsmittel auf exakte Termine hinsichtlich Abgabe von Sexualduftstoffen einzustellen, ist folglich sehr komplex. Es ist notwendig, einen gewissen Spielraum einzuplanen. Als 1. Schritt müsste ein standardisiertes Verfahren entwickelt werden, das es dem Prä-

parat ermöglicht, Pheromon über mindestens 12 Wochen kontinuierlich abzugeben. Die konkrete Einstellung des Systems auf unterschiedliche klimatische Bedingungen und sortenspezifische Eigenschaften wären weitere Forschungsschritte.

4. Material und Methoden

4.1 Elektrosinnen von Nanofasern

Die erfolgreiche Paarungsstörung von Insekten mittels Pheromonen, die eingesponnen in das neue Trägermaterial Nanofaser einige Vorteile im Gegensatz zur handelsüblichen Dispenserform mit sich bringen, ist künftiges Ziel dieses Projektes. Besonders die Polymerarbeitsgruppe um Greiner und Wendorff der Universität Marburg, die mit Pheromon beladene Nanofaservliese herstellen und optimieren (GREINER & WENDORFF 2007, HELLMANN et al. 2009), leisten einen entscheidend wichtigen Teil für die Durchführung dieses Projektes.

Mit Hilfe eines elektrischen Feldes wird die Oberflächenspannung eines Tröpfchens einer Lösung überwunden und aus dem Tropfen tritt ein feiner Strahl (engl. Jet) aus. Das Lösungsmittel verdampft, und es entsteht eine Faser mit einem Durchmesser von wenigen Mikrometern bis hin zu Nanometern (Abb.6). Das Verfahren des Elektrosinnens wurde bereits von COOLEY und MORTON (1902) konzipiert und patentiert, inzwischen jedoch in zahlreichen Varianten weiterentwickelt.

Unter Anleitung von Dr. Christoph Hellmann wurden zwei DIN A4 große Vliese, beladen mit dem Pheromon 8-Methyldecan-2-yl-Propionat von *Diabrotica virgifera virgifera*, an der Universität Marburg gesponnen.

Für ein Nanofaservlies DIN A4, das handlich von der elektrisch leitenden Alufolienunterlage zu entfernen ist, werden ca. 10 ml Polymerlösung benötigt. Diese setzt sich zusammen aus 1,2 ml Polymer (Ecoflex), 0,6 ml Pheromon (8-Methyldecan-2-yl-Propionat) und 8,2 ml Lösungsmittel (Dichlormethan) (Abb.7).

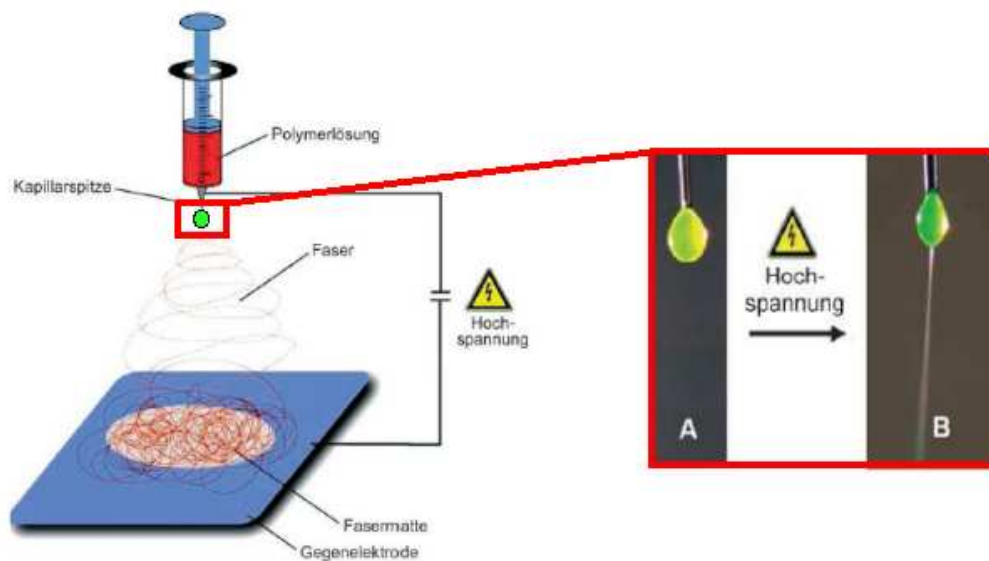


Abb. 6: Schematische Darstellung des Elektorspinnens; Mit Hilfe von Hochspannung entspringt aus dem Tröpfchen der Polymerlösung am Spritzenende ein feiner Jet bzw. eine Nanofaser (modifiziert nach GREINER & WENDORFF 2007).



Vlies ohne Salz:

- 12% Polymer (Ecoflex®)
- 4% Pheromon (33,3 wt-% 8-Methyldecan-2-yl-Propionat)
- 84% Lösungsmittel (Dichlormethan)

Vlies mit Salz:

- 12% Polymer (Ecoflex®)
- 4% Pheromon (33,3 wt-% 8-Methyldecan-2-yl-Propionat)
- 0,5% Salz (Benzyltriethylammonium chloride)
- 83,5% Lösungsmittel (Dichlormethan)

Abb. 7: Die Polymerlösung setzt sich zusammen aus Ecoflex®, Pheromon und Lösungsmittel.

Zu Beginn werden die Spritzen für einen optimierten Spinnprozess präpariert. Die Kanülen werden mit einer Handzange gekürzt bzw. die schräg zulaufende Spitze entfernt. Mit feinem Schleifpapier bearbeitet man das Ende der Kanüle, um eine gleichmäßige Öffnung zu erhalten. Dies ist für eine gute Tropfenbildung notwendig. Die Spritzen werden jeweils mit 2 ml

der Polymerlösung gefüllt. Nachdem die Kanülen und Spritzen zusammengefügt wurden, werden die Spritzen in die vorgesehene Apparatur eingesetzt und mit einem Klappriegel fixiert. Die Schubkolben werden manuell bis zum Kontakt mit dem Spritzenende vorgefahren. Die Gegenlektrode in Gestalt einer rotierenden Trommel wird mit einer handelsüblichen Alufolie präpariert, die bei dem verwendeten Elektrosprinter eine Oberfläche von der Größe DIN A4 besitzt. Das Anlegen der Spannung erfolgt mit Klemmen, ca. 15 kV an den Kanülen und 1 kV an der Trommel. Aus Sicherheitsgründen wird beim Öffnen der Glastür der Apparatur der Stromkreis unterbrochen. Um einen gleichmäßigen Jet, der je nach System variiert, zu erhalten, können Parameter wie Spannung und Spritzenvorschub verändert werden. Der Spritzenvorschub mit der Einheit 10 entspricht dem Durchfluss von 20 $\mu\text{l}/\text{min}$ an Polymerlösung. Die Geschwindigkeit der Trommelrotation entscheidet über die Struktur des Nanofaservlieses. Bei unserem Spinnprozess betrug sie 50 U/min. Zudem fährt die Trommel unterhalb der Spritzen einige cm von links nach rechts und wieder zurück, um die ganze bespinnbare Fläche auszunutzen. Alle Parameter sind während des Spinnprozesses manuell einstellbar (Abb.8).

Die genutzte sogenannte „kleine Spinnanlage“ wurde in Eigenproduktion der Universität Marburg zusammengesetzt. Schwierigkeiten bei dem Spinnprozess macht die Optimierung aller manuellen Parameter hinsichtlich verschiedener Systeme, da jedes System unterschiedliche Ansprüche hat. Das Verspinnen von Ecoflex bspw. ist sehr stark temperaturabhängig. Bereits ein Unterschied von 1 bis 2 $^{\circ}\text{C}$ beeinflusst den Spinnprozess. Die optimale Spinntemperatur liegt bei 17 $^{\circ}\text{C}$. Eine nur minimal höhere Temperatur lässt die Polymerlösung zu früh erhärten, die Kanüle verstopft, sprich der Tropfen trocknet zu rasch und es entsteht kein Jet. Da der Jet nahezu unsichtbar ist, musste mehrmals der Jetbereich mit einer Lampe bestrahlt werden, um ihn mittels Reflektion sichtbar zu machen. Konnte kein Spinnprozess erkannt werden, war dies ein Zeichen für die Notwendigkeit zur Entfernung des erhärteten Tropfens mit einer elektrisch isolierenden Plastikstange. Nach der Reinigung der Spritzenspitze bildete sich ein frischer Tropfen und der Spinnprozess konnte wieder aufgenommen werden.

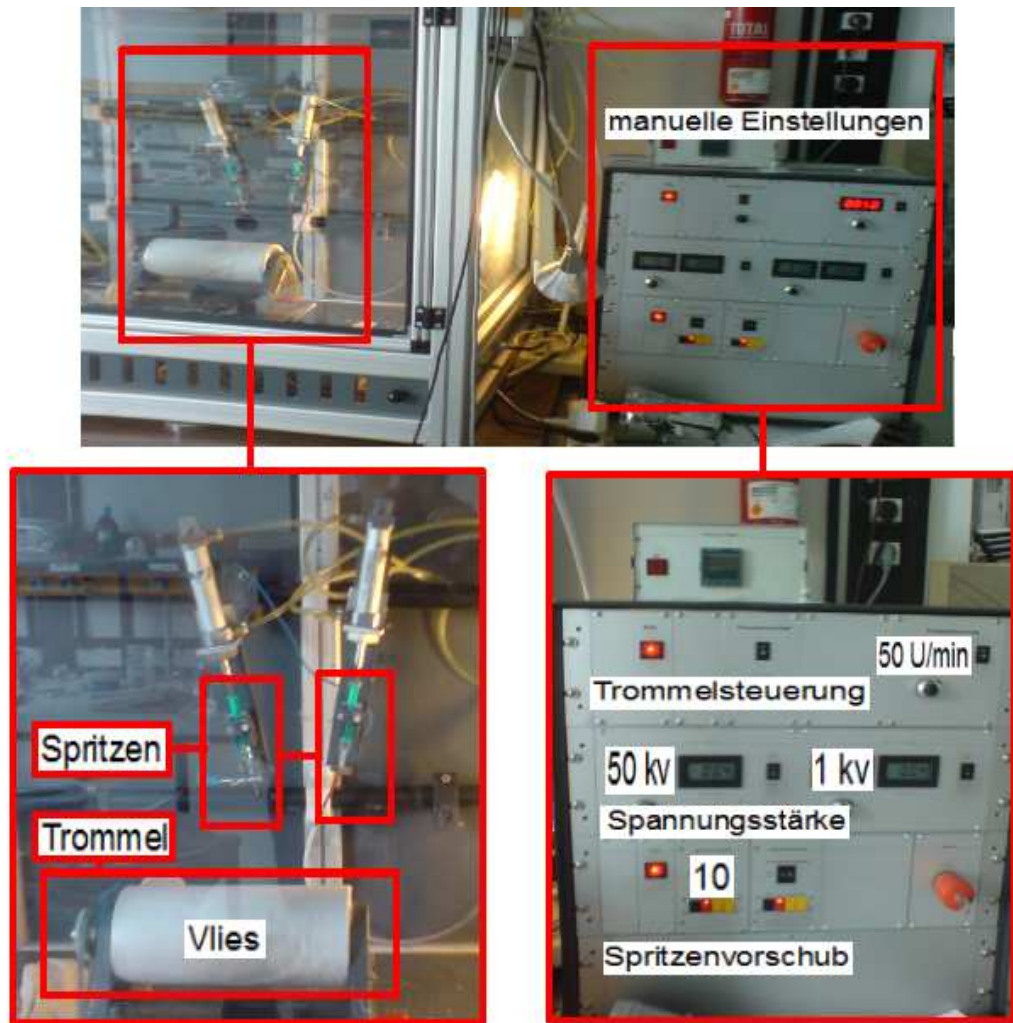


Abb. 8: Darstellung der kleinen Elekterspinnanlage der Universität Marburg mit Vergrößerung und Beschriftung der einzelnen Bauelemente.

Nach Fertigstellung des Vlieses wird dieses samt Alufolie vorsichtig von der Trommel entfernt, in weiterer Alufolie verpackt, beschriftet, tiefgefroren und ist bereit für die vorgesehenen Untersuchungen wie gravimetrische Bestimmung, CLSA und GC.

4.2 Bestimmung der Pheromonabgaberate mittels Gravimetrie

Windkanäle sind vorrangig für die Erforschung und Verbesserung aerodynamischer und aeroakustischer Eigenschaften von Objekten einsetzbar. Im Flugzeug- und Automobilbau sind Windkanalversuche hinsichtlich Luftwiderstand, Auftrieb, Stabilität und Steuerung nicht mehr wegzudenken. Allerdings kommt der Windkanal (Flugtunnel) auch im Rahmen der Insektenforschung, beispielsweise bei der Untersuchung des Flugverhaltens von Insekten in

Richtung auf Pheromonquellen (WITZGALL 1996), zum Einsatz.

In unserer Untersuchung wurde der Windkanal genutzt, um den Einfluss des abiotischen Faktors Wind im Hinblick auf die Pheromonabgaberate der Nanofaserpräparate mit einzubeziehen. Entscheidende Aspekte bei diesem Windkanalversuch sind eine konstante Luftgeschwindigkeit, eine laminare Strömung ohne Verwirbelungen und eine mittels Aktivkohlefilter von Verunreinigungen befreite Luft. Der für diesen Versuch zur Verfügung stehende Windkanal besteht aus Plexiglas und weist Maße auf von 180 cm Länge, 80 cm Tiefe und 83 cm Höhe (Abb. 9). Auf der einen Seite erzeugt ein Ventilator eine konstante Luftgeschwindigkeit von 0,5 m/s. Gereinigt von einem Aktivkohlefilter und mittels Siebsatz in eine laminare Strömung versetzt, strömt die Luft durch den Windkanal und wird auf der anderen Seite von einem weiteren Ventilator abgesaugt und gereinigt.



Abb. 9: Aufbau des Windkanals am Gladbacherhof (links) und Vergrößerung von im Windkanal hängenden Faserproben mit Käfig (rechts).

Die Fasern wurden von der Alufolie, die als Trägermaterial beim Spinnprozess diente, gelöst und in ca. 30-40 mg schwere Proben geteilt. Anschließend wurden die Proben einzeln und im Drahtkäfig mit einer Feinwaage (Mettler AE 160) gewogen (Abb.10). Von den 2 Nanofaservliesen das eine mit Salz, das andere ohne Salz hergestellt wurden je 3 Wiederholungen für 3, 7, 14, 21 und 28 Tage in den Windkanal eingehängt. Nun wurden die Proben 2 mal wöchentlich für möglichst kurze Zeit mit einer Pinzette aus dem Flugtunnel entnommen und mit Käfig gewogen. Beim jeweiligen Entnahmetermin wurden die Fasern wieder mit Käfig und einzeln gewogen.



Abb. 10: Abbildung der Feinwaage (links), Wägung der Nanofaserprobe *ohne* (Mitte) und Wägung der Nanofaserprobe *mit* Käfig (rechts).

Temperatur und Luftfeuchtigkeit, die jahreszeitlich schwanken, wurden mit einem Datenlogger EL-USB festgehalten und können bei der Interpretation der Abgaberraten im Kapitel Ergebnisse berücksichtigt werden. Die Auswertung der Wägung erfolgt über die Masseverluste der Proben in OpenOffice.

4.3 Closed-Loop-Stripping-Analysis (CLSA)

Die Methode CLSA macht es möglich, flüchtige Spurenkomponenten, sowohl in ihrer Spektrumsbreite als auch in ihrer tatsächlichen Abgabemenge, zu untersuchen (BOLAND et al. 1984). Ursprünglich entwickelt wurde das Prinzip von GROB und ZÜRCHER (1973). Die Faserproben werden in eine Waschflasche gelegt und die abgegebenen Substanzen reichern sich, transportiert über die Gasphase, in einem Aktivkohlefilter an, der in den Luftkreislauf eingebracht ist. Für den Luftstrom sorgt eine Pumpe, die mittels Calibrator auf einen konstanten Luftdurchfluss von 150 ml/min reguliert wird. Zudem wird die Luft durch Glasfaser und Aktivkohle angesaugt, die vor Verunreinigungen schützen (Abb.11). Zur Abdichtung wird beim Einsatz des Filters mit Teflonband gearbeitet. Gemessen wurden 3 Wiederholungen je Probe mit einer Messdauer von 45 min, 45+30 min und 45+(2*30) min.

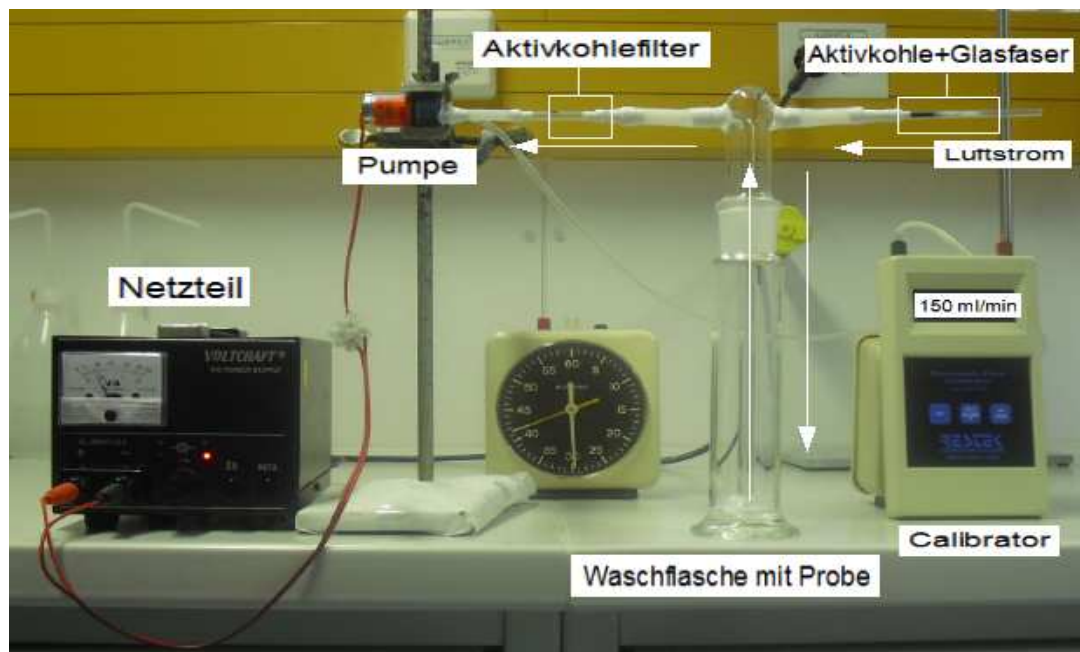


Abb. 11: Aufbau der „Closed-Loop-Stripping-Analysis“, sowie Beschriftung der einzelnen Bauelemente und Darstellung der Richtung des Luftstromes mit Hilfe der weißen Pfeile.

Anschließend werden die Filter mit einem organischen Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan und Methanol (2:1) eluiert. Mit Hilfe einer Glaskolbenspritze und einem Aufsatz wird durch ZIEHEN und DRÜCKEN ein Unter- bzw. Überdruck aufgebaut (BROWNLEE & SILVERSTEIN 1968). Bei diesem Vorgang werden zweimal 25 μ l Lösungsmittelgemisch mit einer 50 Mikroliter-spritze auf den Filter aufgetragen und je 40 mal durch den Aktivkohlefilter gezogen (Abb.12).

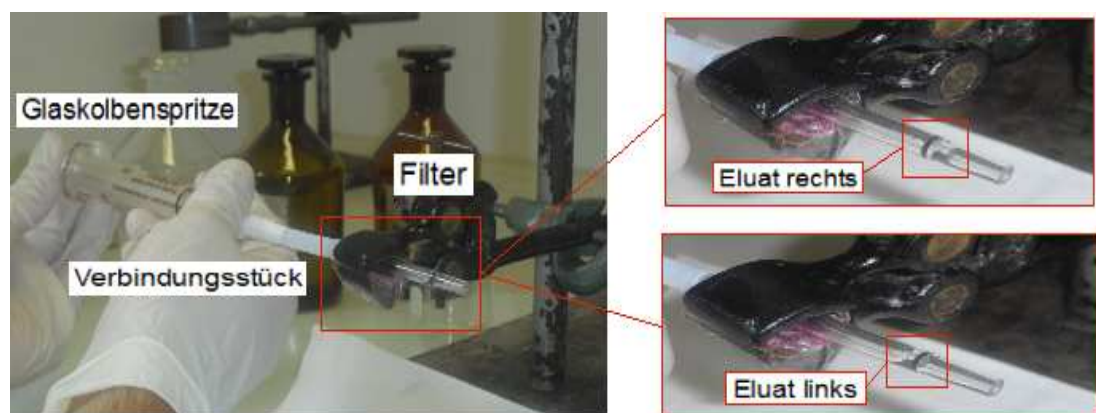


Abb. 12: CLSA: Aufbau (links) und Veranschaulichung (rechts) des Elutionsvorgangs.

Das zurückgewonnene Eluat wird in Autosampler-Proben-Gläschen mit Mikrolitereinsatz gegeben, auf 45 µl Gesamtvolumen aufgefüllt und mit einer Bördelkappe verschlossen. Beschriftet wurde das Gläschen mit Untersuchungsobjekt, Filternummer, Anzahl der Wiederholung, Probennummer, Messzeit und Datum (Abb.13).



Abb. 13: Autosampler-Proben-Gläschen, Mikrolitereinsatz, Feder und Bördelkappe (links) und Vorgang der Spülung der Filter mit einer 500 Mikroliter-Spritze (rechts).

Die benutzen Filter werden mit jeweils 3 ml Dichlormethan/Methanol (2:1), Aceton und Hexan gespült und mindestens eine halbe Stunde im Trockenschrank bei einer Temperatur von 110 °C ausgeheizt. Die Waschflaschen werden nach jeder Probe mit Aceton ausgeschwenkt und wie die Filter im Trockenschrank ausgeheizt. Nach dieser Prozedur sind Filter und Waschflaschen gereinigt und können erneut verwendet werden.

Die fertigen Proben werden anschließend im Gaschromatographen auf Pheromonbouquet und -menge untersucht.

4.4 Gaschromatographie

Die Trennung und quantitative Erfassung von Stoffgemischen, die gasförmig vorliegen oder sich unzersetzt verdampfen lassen, wird über das Verfahren der Chromatographie ermöglicht und als Gaschromatographie bezeichnet (MLADEK & VOEMEL 2010).

Die Trennung erfolgt in einer Säule, die eine stationäre Phase enthält und

von einer mobilen Gasphase durchströmt wird. Unter Phase versteht man einen stofflichen Aggregatzustand, der fest, flüssig oder gasförmig sein kann. Ursache der chromatographischen Stofftrennung ist die substanzspezifische Retention. Diese entspricht der Verzögerung bzw. Verweilzeit einer Stoffkomponente in der stationären Phase. Jede Stoffkomponente besitzt einen spezifischen Verteilungskoeffizienten, der die Verteilung in die stationäre (Flüssigphase) und mobile Phase (Gasphase) beschreibt. Der Verteilungskoeffizient ist korreliert mit der Retention. Bei einem Mengenverhältnis eines Stoffes von 3 ist die Menge des Stoffes in der Flüssigphase dreimal so groß wie in der Gasphase, entsprechend ist die Verweilzeit länger und der Zeitpunkt bis zum Erreichen des Detektors entsprechend verzögert. Folglich können die Stoffkomponenten getrennt voneinander gemessen und in einem „Chromatogramm“ dargestellt werden (Abb.14). So gelingt es, selbst Stoffe zu trennen, die sich lediglich durch ihre cis- oder trans-Konfiguration unterscheiden.

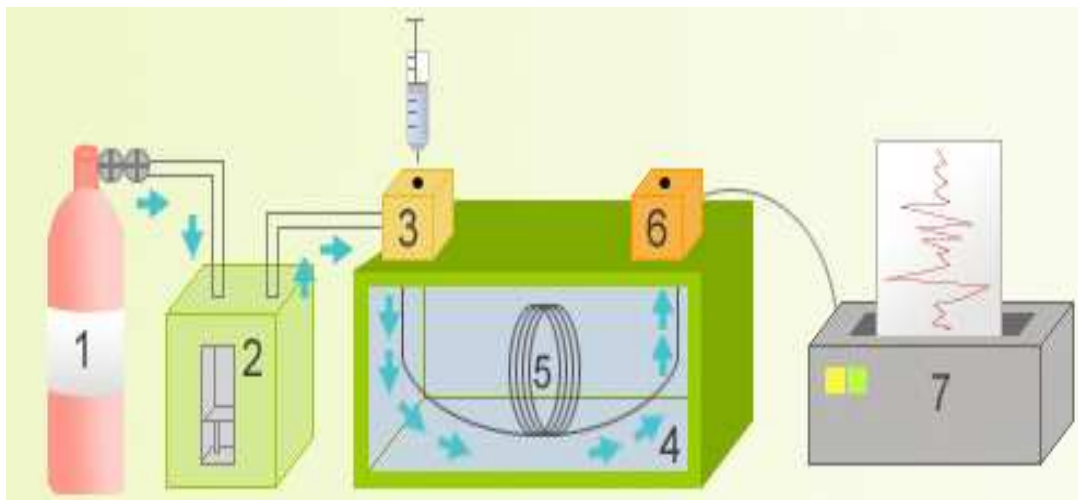


Abb. 14: Abbildung einer Gaschromatographie-Apparatur in ihren einzelnen Bauteilen: 1. Gaszylinder mit Trägergas (Stickstoff), 2. Pumpe (Pressluft), 3. Injektionssystem (automatischer Probengeber), 4. Temperatur programmierbarer Ofen, 5. kapillare Trennsäule, 6. Detektor und Verstärker, 7. Chromatogramm.⁷

Zur Messung wird meist der sehr empfindliche Flammenionisationsdetektor (FID) eingesetzt. Die nachzuweisenden Substanzen werden in einer Wasserstoffflamme verbrannt, organische Stoffe ionisiert und die Erhöhung des Stromflusses registriert (MLADEK & VOEMEL 2010). Das Ergebnis ist ein

⁷ <http://www.solutex.es/images/sfc.jpg>

Chromatogramm, in dem das Detektorsignal gegen die Zeit aufgetragen ist (Abb.15).

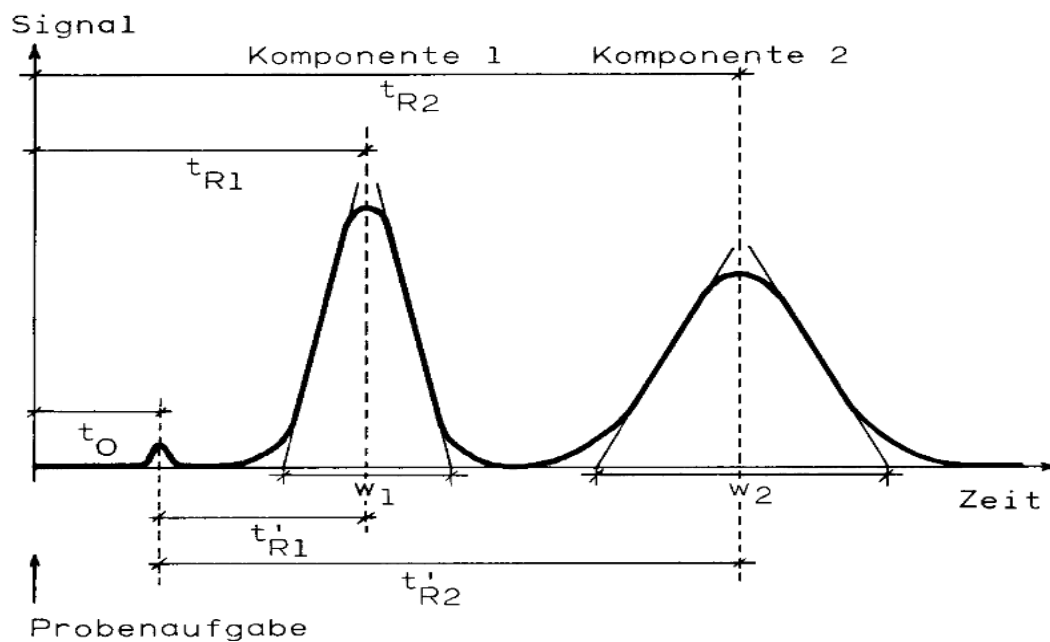


Abb. 15: Gaschromatogramm mit eingezeichneten Kenngrößen.⁸

Die Totzeit (t_0), ist die Zeit, die die mobile Phase von der Probenaufgabe bis zum Detektor am Ende der Trennsäule benötigt. Die Retentionszeit (t_{R1} , t_{R2}) ist die Zeit, die eine Probesubstanz in der Trennsäule verbringt. Das Chromatogramm weist sowohl eine qualitative als auch quantitative Aussage über die einzelnen Stoffkomponenten auf (BRINKERT 2005). Die Retentionszeit, die vom Einspritzen bis zum Signalmaximum verstreicht, fällt für jede Komponente individuell aus und ist bei gleichen Bedingungen konstant. Der Vergleich der Retentionszeit zu einem Standard hilft die Peaks (Komponenten) zu identifizieren. Eine quantitative Aussage kann über die Höhe und Breite der Peaks getroffen werden, deren Fläche proportional zu der eingespritzten Stoffmenge ist. Auch hier können unbekannte Substanzmengen mit der Peakfläche bekannter Konzentrationen (Standardlösung) verglichen und identifiziert werden. Folglich wird das System vorher mit Standardlösungen kalibriert (WEBER & WEBER 1992).

⁸ <http://www.umweltlabor.de/Labor/Im21.gif>

4.5 Nachweis- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholungsbedingungen

Mit der Norm DIN 32645:-2008-11 können Messunsicherheiten in sehr niedrigen Messbereichen beurteilt werden. Sie definiert für die chemische Analytik sowohl die Begriffe Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze als auch deren Ermittlungsverfahren zu Wiederholbedingungen. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze stellen Entscheidungskriterien dar, die a posteriori oder a priori angewendet werden.

– „a posteriori“

„Die Nachweisgrenze dient als Entscheidungskriterium, wenn nach einer Analyse („a posteriori“) an Hand des vorliegenden Analysenergebnisses im Spurenbereich eine Entscheidung über An- oder Abwesenheit des gesuchten Stoffes zu treffen ist.“ Die Nachweisgrenze gibt demnach Auskunft darüber, ob ein gefundener Analyt tatsächlich vorhanden ist oder nicht. „Bestimmt wird die Nachweisgrenze über den Gehalt, der aus dem kleinsten vom Leerwert signifikant unterscheidbaren Signal (kritischer Wert der Messgröße) durch Einsetzen in die Analysenfunktion erhalten wird.“

– „a priori“

„Die Bestimmungsgrenze dient als a-priori-Entscheidungskriterium zur Auswahl eines Verfahren zur Bestimmung eines Analyten bzw. Stoffes. Sie repräsentiert den kleinsten Gehalt des Analyten, der mit einer vorgegebenen minimalen relativen Ergebnisunsicherheit bestimmt werden kann.“ Die Bestimmungsgrenze gibt also die Leistungsgrenze eines Verfahrens an, um den kleinsten Gehalt eines bestimmten Analyten in unbekannter Menge festzustellen. „Diese ist der Gehalt, bei dem die relative Ergebnisunsicherheit, definiert als Quotient aus dem halben zweiseitigen Vorhersagebereich auf einem festgelegten Vertrauensniveau $1-\alpha$ und dem zugehörigen Gehalt, einen vorgegebenen Wert annimmt.“

Voraussetzung für die Gültigkeit der Begriffe sind:

- Linearer Zusammenhang zwischen der Messgröße und dem Analytgehalt
- Normalverteilung der Messwerte
- Homogenität der Varianzen

Die externe Berechnung erfordert die Auswertung folgender Chromatogrammdaten:

- Einer Kalibrierreihe, die sich aus 10 äquidistanten Einzelproben, mit den Konzentrationen von 1 bis 5 ng/μl zusammensetzt. Der Abstand zwischen den einzelnen Proben beträgt 0,5 ng/μl.
- 10 Wiederholungen der niedrigsten Probenkonzentration (1 ng/μl)
- 10 Wiederholungen der höchsten Probenkonzentration (5 ng/μl)
- 10 mit CLSA ermittelten Blindproben (leere Waschflasche)

Weitergeleitete Daten sind ausgewertete Peakflächen und Retentionszeiten. Verwendete Materialien sind gleich den bereits beschriebenen CLSA- und Gaschromatographieanalysen.

4.6 Verwendete Geräte und Hilfsmittel

Elektrospinnen von Nanofasern:

- **2 Kanülen** (0,6 x 25 mm Braun, Sterican)
- **2 Spritzen** (2 ml Norm Ject)
- **Pheromon** (8-Methyldecan-2-yl-Propionat von *Diabrotica virgifera virgifera*, synthetisiert durch Prof. B. Kovalev und bezogen von Trifolio-M GmbH, Lahnau)
- **Polymer** (Ecoflex®, BASF)
- **Lösungsmittel** (Dichlormethan)
- **kleine Elektrospinnanlage** (Universität Marburg)

Windkanal:

- **Windkanal** (Wände aus Plexiglas, laminare Strömung mit einer Geschwindigkeit von 0,5 m/s)
- **Käfige** aus Aluminiumdraht
- **Feinwaage** (Mettler AE 160)

CLSA:

- **Netzgerät** (Votcraft DC POWER SUPPLY)
- **Waschflasche**
- **Glaskolbenspritze** (Pulten & Graf, Volac, Spritze Fortuna Optima, Glaskonus, LUER, 10mL, Artikel-Nr. 1930635010)
- **Feder** (CZT - Klaus Trott Chromatographie Zubehör, 5x20, Artikel-Nr. 501167012)
- **µL-Einsatz** (CZT - Klaus Trott Chromatographie Zubehör, 5x30 mm Spitze 15 mm, ca. 100 µl (konisch) Artikel-Nr. 501105021)
- **Autosamplerglas** (CS-Chromatographie Service GmbH, Flasche R1 klar, BR 3,0; Bestellnr. :300001)
- **Bördelkappe** (CS-Chromatographie Service GmbH, , R11-1,3; WE 10882 Artikel-Nr.: 301079)
- **Spritze** (50 Mikroliter, Hersteller: Hamilton-Bonaduz. Schweiz, Art-Nr. 1705)
(500 Mikroliter, Hersteller: Hamilton-Bonaduz. Schweiz, Art-Nr. 750)
- **CLSA-Filter** (5 mg Aktivkohle, Hersteller: Daniel Gränicher, Daumazen sur Arize – Frankreich)
- **Miniaturvakuumpumpe** (Vakuumpumpen DC12/16NK, Erich Fürgut, Miniaturvakuumpumpen, Tannheim)
- **Methanol** CH₃OH (Pestanal, FLUKA Analytical, Art-Nr. 34485)
- **Dichlormethan** CH₂Cl₂ (Pestanal, Riedel-de Haen, Art.-Nr. 34488)
- **Hexan** CH₃(CH₂)₄CH₃ (≥ 95.0 %, FLUKA Analytical, Art.-Nr. 34484)
- **Aceton** CH₃COCH₃ (≥ 99.8 %, Supra Solv, Art.-Nr. 1.00012.2500)

Gaschromatographie:

- **GC Gaschromatograph** HP 5890 mit automatischem Probengeber HP6890
- **Kapillarsäule:** FS-INNOPEG-2000, Länge 30 m, Innendurchmesser

0,25 mm, Außendurchmesser 0,36 mm, Filmdicke 0,25 µm, max.

Temperatur 260-280 °C, Art-Nr. 22517130, Hersteller:

Chromatographie Service

- **Trägergas:** Stickstoff
- **Make-up-Gas:** Pressluft
- **Injektor:** Split/Splitless-Einlass-System mit einem Gas-Liner, doppelkonisch, deaktiviert ohne Glaswolle; im Splitless System betrieben
- **Injektortemperatur:** 200 °C
- **Temperaturprogramm:** Start bei 80 °C, 0 min, mit 10 °C/min auf 220°C, 6 min halten, Gesamtlauflänge 20 min
- **Detektor:** FID mit Wasserstoff betrieben
- **Detektortemperatur:** 250 °C
- **Integrator:** HP 3396 Series III Integrator

5. Ergebnisse und Diskussion

5.1 Auswertung der gravimetrisch ermittelten Pheromonabgaberate

Die gewonnenen Daten wurden mit OpenOffice ausgewertet. Die Berechnung von Mittelwerten, Standardabweichungen sowie die Durchführung des T-Testes helfen, die Daten zu ordnen und zu bewerten. Säulendiagramme mit y-Fehlerbalken (Standardabweichung) und Streudiagramme mit geraden Verbindungslinien zwischen den Punkten verdeutlichen die Pheromonabgaberate und den Vergleich der beiden Nanofasern in ihrem Abgabeverhalten.

Schwerpunkt dieser Arbeit ist sowohl die Ermittlung des Abgabeverhaltens von *Diabrotica v. virgifera*-Pheromon von Nanofasern als auch der Vergleich mit bzw. ohne Salz gesponnener Nanofasern.

Die beiden Faserproben wurden, wie im Teil Methoden beschrieben, vorbereitet und zu je 3 Wiederholungen in den Windkanal gehängt. Nach 3, 7, 14 und 21 Tagen wurden die Proben entnommen. Mit Hilfe einer Feinwaage wurde das Gewicht ermittelt. Die Differenz zwischen Startgewicht und

Endgewicht, dividiert durch die Anzahl der Tage, die die Probe im Windkanal hing, ergibt die durchschnittliche Abgaberate pro Tag. Um die Aussagekraft der Daten zu stärken, wird nicht die gesamte Abgaberate, sondern die veränderte Abgaberate zwischen den einzelnen Messungen berücksichtigt. Von jeder Probe wurde die veränderte Abgaberate berechnet und anschließend der Mittelwert aus den 3 Wiederholungen gebildet. Der Bezug zwischen Pheromonabgaberate und Probenmenge wird ausgedrückt in [mg Abgabe / mg Probe und Tag] ist für die Entwicklung eines standardisierten Herstellungsverfahrens von pheromonbeladenen Nanofasern unabdingbar. Das folgende Diagramm zeigt den Vergleich der beiden Fasern in [mg Abgabe / mg Probe und Tag] (Abb.16).

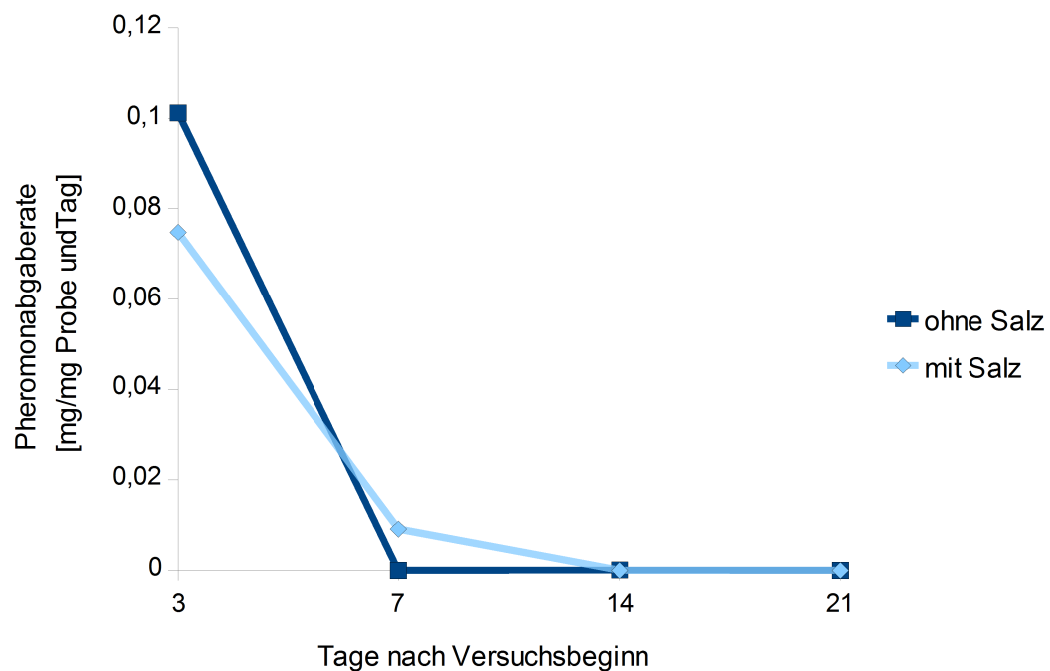


Abb. 16: Vergleich der unterschiedlichen Nanofasern anhand der Pheromonabgaberate im Windkanal in [mg/mg Probe und Tag].

Nach 3 Tagen ist ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Fasern festzustellen, der aber bereits ab dem 7. Messtag verschwindet. Die ohne Salz gesponnene Faser weist zu Beginn einen höheren Abgabewert auf. Ab dem 3. Tag nähern sich die Werte der beiden Vliese an. Die mit Salz gesponnene Faser zeigt zwar noch eine sehr geringe Abgabetendenz am Tag 7 an, allerdings verweist die Standardabweichung von 0,0091 mg/mg Probe und Tag auf eine Abgabemenge gegen Null, wie auch die Ergebnisse der weiteren Messperioden bestätigen. Am Tag 14 und 21 ist keine Abgabe zu

erkennen. Ein signifikanter Unterschied zur ohne Salz gesponnenen Faser kann nicht festgestellt werden.

Diskussion der Wägungsergebnisse

Entscheidend bei der Verwirrungsmethode ist eine konstante Abgabe des Pheromons über die gesamte Flugperiode bzw. Paarungszeit der Insekten. Wie in Kapitel 3 beschrieben, wäre im Falle von *Diabrotica v. virgifera* eine zwölfwöchige konstante Abgabe des Pheromons der wünschenswerte Optimalfall. Dazu müsste die Faser „intelligente“ Eigenschaften annehmen, die sie zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht hat.

Das erstmalig gesponnene System Polymer (Ecoflex®), Lösungsmittel (DCM) und Pheromon (Methyldecan-2-yl-Propionat) erfüllt diese Anforderungen noch nicht. Die Wägungsergebnisse machen deutlich, dass bereits nach Tag 3 so gut wie keine Pheromonabgabe mehr stattfindet.

Im Vergleich der beiden Fasern, die mit und ohne dem Salz Benzyltriethylammoniumchlorid gesponnen wurden, ist nur zu Beginn ein signifikanter Unterschied zu erkennen. Obwohl die Faser ohne Salz mit einer deutlich höheren Abgabe nach 3 Tagen von 0,1012 mg/mg Probe und Tag (ohne Salz 0,0748 mg/mg Probe und Tag) startet, ist bereits am Tag 7 der Messung keine Abgabe bei beiden Fasern festzustellen.

Da nicht nur die *Höhe* der Abgaberate, sondern auch die *Gleichmäßigkeit* der Abgabe für eine erfolgreiche Verwirrung entscheidend ist, muss sich noch herausstellen, welche der beiden Fasern besser für die zukünftige Optimierung des Systems geeignet ist. Ein Pluspunkt des mit Salz gesponnenen Vlieses ist der verbesserte, gleichmäßigere Spinnprozess (Abb.24). Das Salz erhöht die Leitfähigkeit und verringert die Viskosität, die das Maß der Zähflüssigkeit eines Fluids beschreibt. Somit entsteht eine weitaus dünnere Faser und ein gleichmäßigeres Vlies. Auch der Spinnprozess an sich verläuft reibungsloser, da durch die erhöhte Leitfähigkeit das zu schnelle Erhärten des Tröpfchens an der Spritzennadel, wie in Kapitel 4.1 Elektrosinnen von Nanofasern beschrieben, verhindert wird. Die vergrößerte Oberfläche und die einhergehende erhöhte Stabilität des Vlieses kann bei einer maschinellen Ausbringung von Vorteil sein und erleichtert zudem das Lösen vom Trägermaterial Alufolie. Weiterhin ist

anzunehmen, dass die vergrößerte Oberfläche Grundlage für eine zukünftig konstantere und verlängerte Abgabe des Vlieses sein könnte.

5.2 Auswertung der Ergebnisse: Windkanal/CLSA/GC - Analyse

Nach der Auswertung mittels Wägung wurden die Proben einer CLSA unterzogen. Von dieser sehr sensiblen spurenanalytischen Methode versprach man sich weitere detaillierte Einblicke in das Pheromonabgabeverhalten der Fasern. Die CLSA-Proben wurden im GC analysiert und die Chromatogramme im Vergleich zur Kalibriergeraden ausgewertet. Den Standardproben zu Folge liegt die Retentionszeit des Pheromons 8-Methyldecan-2-yl-Propionat zwischen 10,2 und 11,6 min., wobei *niedrige* Pheromonkonzentrationen eindeutig höhere Retentionszeiten aufweisen als *hohe* Pheromonkonzentrationen. Diese großen Schwankungen der Retentionszeit in Abhängigkeit von der Pheromonmenge in der jeweiligen Probe erfordert den ständigen Vergleich zwischen auszuwertender Probe und dazugehöriger Kalibrierung. Da mehrere Peaks innerhalb der Schwankungsbreite der Retentionszeit auftreten, wird die richtige Interpretation im Abgleich mit den Standardproben entscheidend. Bei den Messtagen 3 und 7 wurde ein Retentionsminimum von 11 min. und bei den übrigen ein Retentionsminimum von 11,25 min festgesetzt. Das Retentionsmaximum ist nur bei Messtag 14 und 21 auf 11,5 min beschränkt, um den Konzentrationen der Standardproben und deren Retentionszeiten im Vergleich gerecht zu werden.

Dem definierten Auswertungsschema zu Folge konnte bei keiner der Windkanalproben eine Pheromonabgabe mittels CLSA festgestellt werden.

Jedoch konnte mit der Untersuchung einer CLSA-Startprobe der Faser ohne Salz eindeutig eine Pheromonabgabe nachgewiesen werden. Dieser Versuch konnte leider nicht mit einer mit Salz gesponnenen Faser durchgeführt werden, da das ganze Material im Windkanalversuch eingesetzt wurde.

Der mittlere Abgabewert der Startprobe ohne Salz liegt bei 0,2492 mg/mg Probe und Tag (Abb.16). Die überaus hohe Standardabweichung der Startprobe ist auf die extrem hohe Pheromonkonzentration zurückzuführen, da diese im Mittel bei 5.414 ng/µl und somit den Höchstwert der

angewandten Kalibriergeraden von 1.000 ng/μl, vielfach überschreitet.

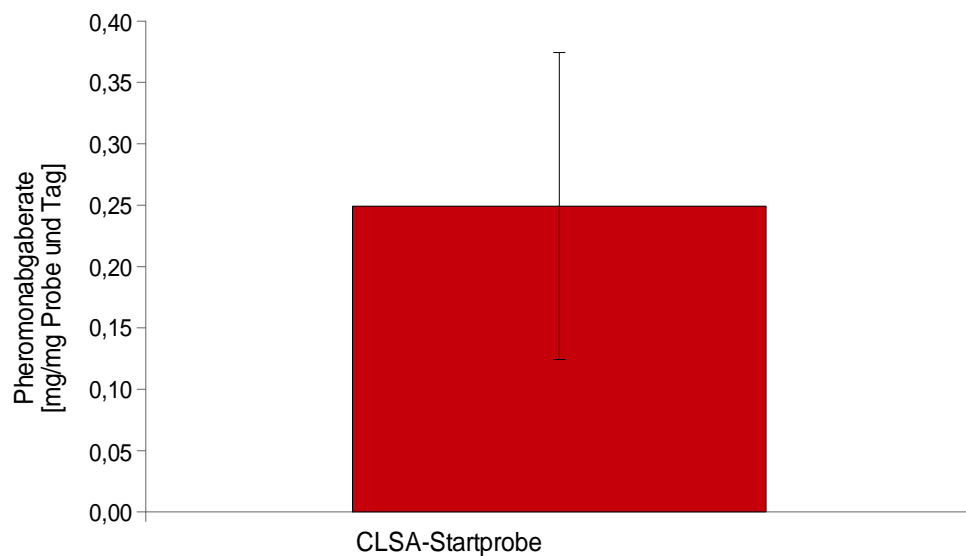


Abb. 17: Darstellung der Pheromonabgaberate einer CLSA-Startprobe bestehend aus einer ohne Salz gesponnenen Nanofaser.

Diskussion der CLSA-Ergebnisse

Positiv zu bewerten ist die eindeutige Pheromonabgabe der Startprobe. Entsprechend dem Kalibrierschema entspricht ihre niedrige Retentionszeit (Ø 10,0542 min.) einer hohen Pheromonkonzentration. Wichtig für die weitere Forschung ist die Tatsache, dass die Nanofaser Pheromon 8-Methyldecan-2-yl-Propionat abgibt und dieses auch mit Hilfe der CLSA/GC-Analyse nachgewiesen werden kann.

5.3 Vergleich der Wägungs- und CLSA/GC - Ergebnisse

Unter normalen Umständen sollten die Wägungsergebnisse mit denen der CLSA und GC-Analyse übereinstimmen. Bis auf kleinere Abstriche wird diese Annahme beim Vergleich der ausgewerteten Daten bestätigt (Abb.18).

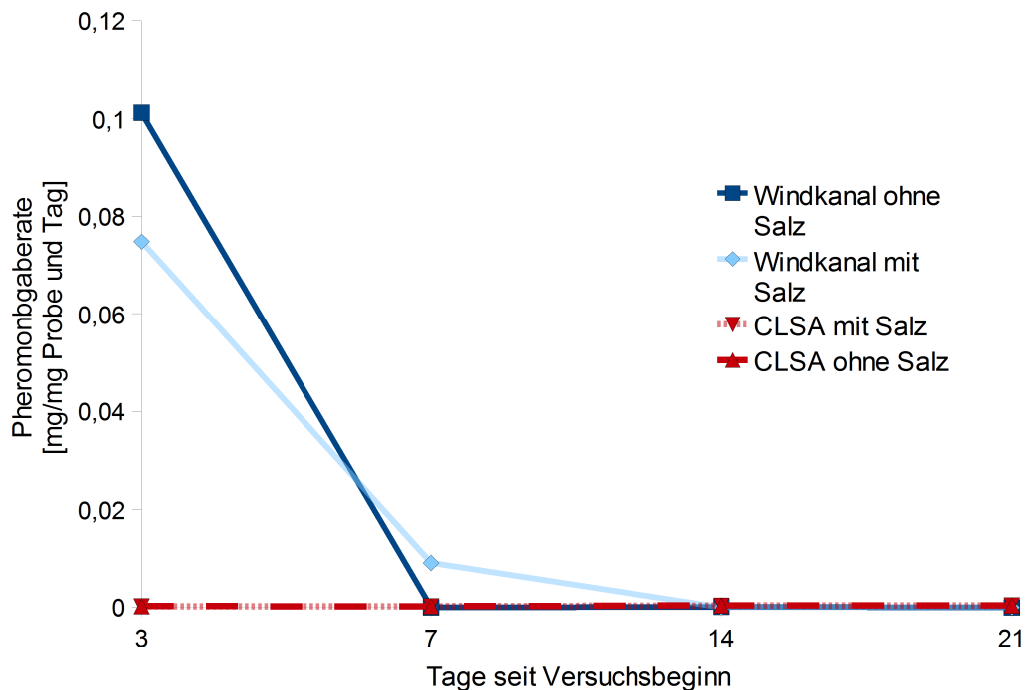


Abb. 18: Vergleich der beiden Untersuchungsmethoden; Wägung nach Windkanalversuch und CLSA mit anschließender GC-Analyse.

Wie bereits bei der Einzelauswertung der unterschiedlichen Untersuchungsmethoden festgehalten, findet ab dem 3. Messtag keine maßgebliche Abgabe von Pheromon statt (Abb.18). Leicht erhöhte Werte, wie sie am Tag 7 der Windkanalwerte auftreten, sind aufgrund ihrer hohen Standardabweichung (Abb.16) bei einer Pheromonabgabe gegen Null anzusiedeln.

Interessant scheint der Vergleich der CLSA-Startprobe (ohne Salz) mit den Ergebnissen der Proben von Messtag 3 der Wägungsuntersuchung (Abb.19), um mehr über das Verhalten der Abgabe innerhalb der ersten 3 Tage zu erfahren.

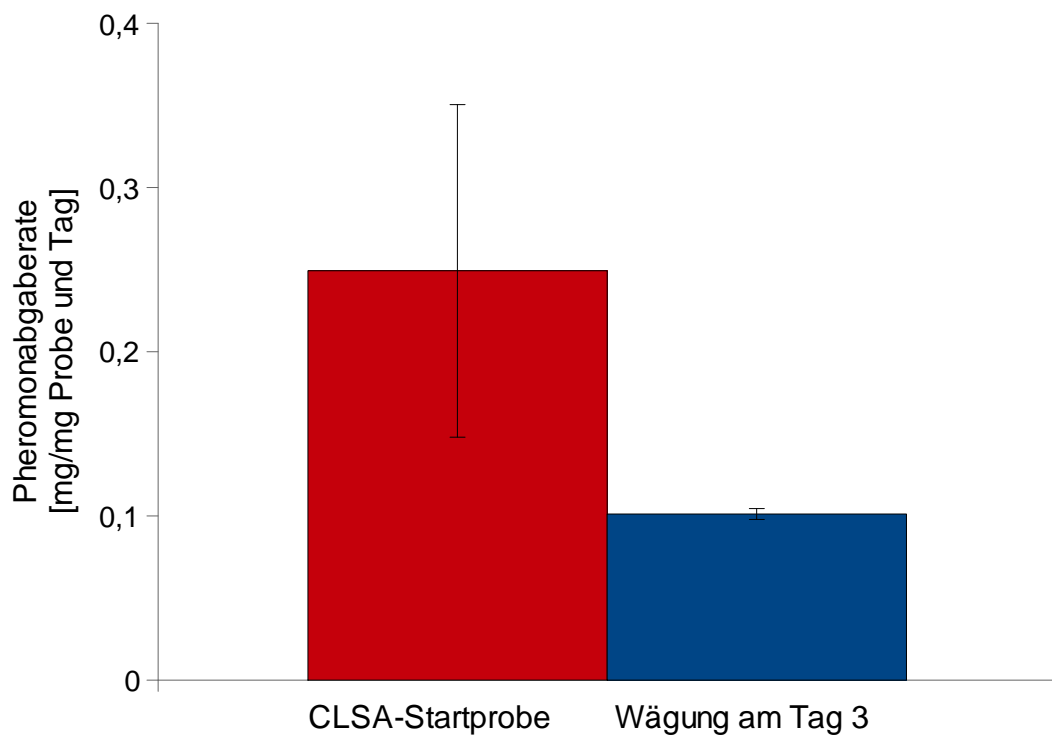


Abb. 19: Vergleich der mittleren Pheromonabgaberraten einer CLSA-Startprobe mit den Wägungsergebnissen von Messtag 3 (Nanofaser ohne Salz).

Da die Ergebnisse von CLSA und Wägung größtenteils übereinstimmen, kann über den Vergleich der CLSA-Startprobe und den Ergebnissen von Messtag 3 (Wägung) der Verlauf der Pheromonabgabe für die ersten 3 Tage bestimmt werden. Nach Wägung werden jeden Tag durchschnittlich 0,1012 mg/mg Faserprobe und Tag (Faser ohne Salz) abgegeben (Abb.16). Die errechnete Gesamtabgabe nach 3 Tagen entspricht folglich 0,3036 mg/mg Probe und Tag. Aus dem Ergebnis der CLSA-Startprobe ist bekannt, dass am 1. Tag mindestens 0,2492 mg/mg Probe und Tag abgegeben wird. Somit muss sich die Differenz zwischen Gesamtabgabe nach Wägung und Wert der CLSA-Startprobe auf Tag 2 und 3 verteilen. Die Differenz beträgt 0,0544 mg/mg Probe und Tag. In Abbildung 20 wird der Abgabewert der CLSA-Startprobe dem errechneten Abgabewert für Tag 2 und 3 gegenüber gestellt.

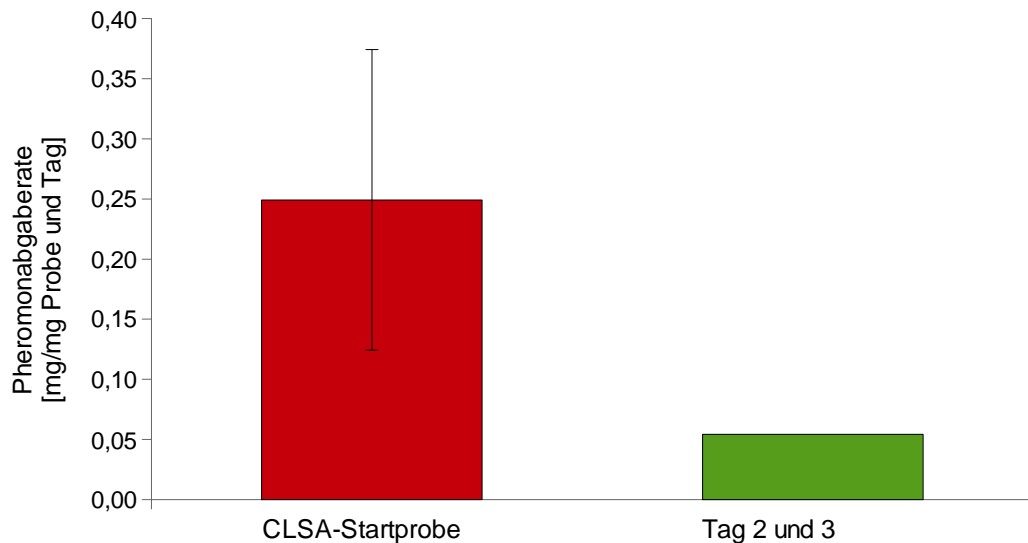


Abb. 20: Die berechnete Pheromonabgaberate für Tag 2 und 3 ergibt sich aus der Differenz der CLSA-Startprobe (Tag 1) und dem dreifachen Wägungsergebnis von Tag 3.

Bereits nach dem ersten Tag nimmt die Pheromonabgabe drastisch ab. Während die Startprobe nach CLSA und GC-Analyse am ersten Tag noch mindestens 0,2492 mg/mg Probe und Tag abgibt, verteilt sich die vielfach geringere Abgabemenge, nachgewiesen durch Wägung und Vergleich zu CLSA-Startprobe, von 0,0544 mg/mg Probe und Tag in einem unbekannten Verhältnis auf Tag 2 und 3 (Abb.20).

Diskussion des Vergleichs der Wägungs- und CLSA-Ergebnisse

Wie erwartet zeigen beide Methoden eine gegen Null tendierende Abgabe ab Messtag 3. Neu ist die Erkenntnis über die Pheromonabgabeverteilung innerhalb der ersten 3 Tage. Die Hoffnung auf eine konstante Abgabe während der 1. Messperiode konnte nicht bestätigt werden. Dem angestellten Vergleich mit anschließender Berechnung zu Folge wird am ersten Tag eine Menge von 0,2492 mg/mg Probe und Tag (ca. 25 %/mg Probe und Tag) und an den übrigen 2 Tagen 0,0544 mg/mg Probe und Tag abgegeben. Somit lässt sich auf eine sehr rasche Abnahme der Pheromonabgabe schließen, die bereits am 2.Tag erkennbar ist und folglich nicht den gewünschten Ansprüchen einer über mehrere Tage hinweg konstanten Pheromonabgabe entspricht.

5.4 Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Zur statistischen Qualitätssicherung der CLSA-Daten und dem angewandten Verfahren der Gaschromatographie wurde die Nachweis (NG)- und Bestimmungsgrenze (BG) berechnet. Die Berechnung erfolgte nach DIN 32645 und wurde mit dem Programm LABbase blomesystem (Version 8.4.1) durchgeführt.

Die Werte liegen bei 0,2655 ng/µl (NG) und 0,9244 ng/µl (BG). Alle verwendeten Daten liegen oberhalb der Bestimmungsgrenze und lassen folglich quantitative Aussagen zu. Zudem ist zu sagen, dass der Nachweis des Pheromons 8-Methyldecan-2-yl-Propionat mit der Verfahrensmethode GC-FID in dem erwünschten Konzentrationsbereich feststellbar ist.

5.5 Vergleich der unterschiedlichen Nanofaservliese

Ein Vlies wurde mit dem Zusatz von 0,5 % des Salzes Benzyltriethylammoniumchlorid gesponnen. Gestützt auf das Sicherheitsdatenblatt (ScienceLab.com) sind dem Salz keine außergewöhnlichen gesundheitlichen und umweltschädlichen Gefahren nachzuweisen. Grund für den Einsatz des Salzes ist die erhöhte Leitfähigkeit und die herabgesetzte Viskosität des Systems Polymer, Lösungsmittel und Pheromon und der damit einhergehende verbesserte Spinnvorgang. Der optimierte Spinnprozess macht sich in zwei Punkten bemerkbar. Zum einen nimmt die Erhärtungsproblematik des Tröpfchens am Spritzenende ab (4.1 Elektrospinnen von Nanofasern) und zum anderen entsteht durch den beschleunigten Spinnvorgang (erhöhte Leitfähigkeit) eine dünnere und weitaus gleichmäßigere Faser (Abb.21). Das Vlies ohne zugesetztes Salz weist zahlreiche Verdickungen auf (Abb.22). Die beiden Abbildungen wurden mit einem digitalen Mikroskop der Universität Marburg aufgenommen.

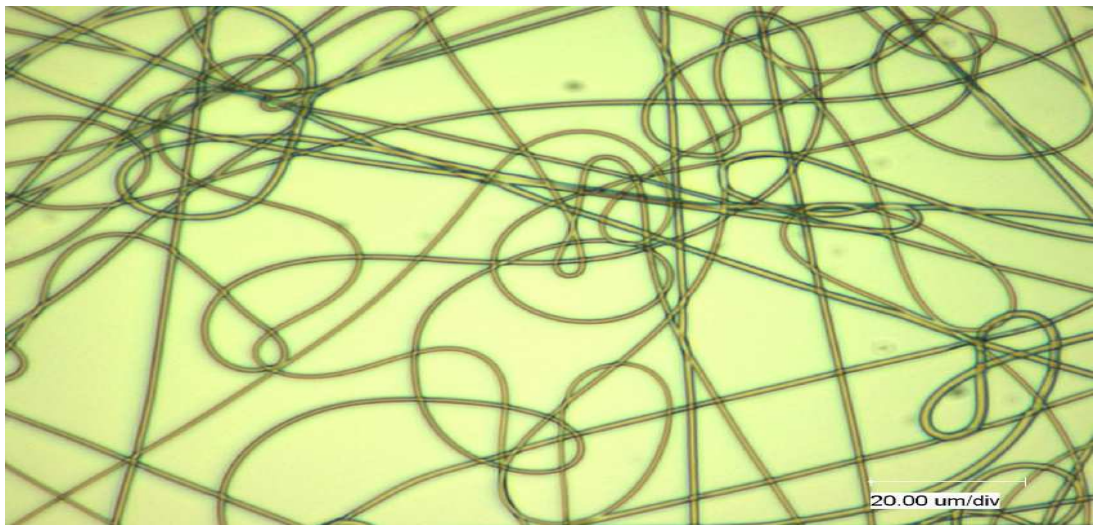


Abb. 21: Die digital-mikroskopische Abbildung einer, mit 0,5 % Benzyltriethylammoniumchlorid (Salz) gesponnenen, Nanofaser.



Abb. 22: Die digital-mikroskopische Abbildung einer ohne Salz gesponnenen Nanofaser.

Der erste Spinnversuch des neuen Systems wurde ohne Salz durchgeführt. Wie in Abbildung 22 zu erkennen, weist die Faser einige Verdickungen und Unförmigkeiten auf. Dies stellte den Grundgedanken der Schaffung einer sehr großen Oberfläche mit Hilfe äußerst feiner Fasern im Nanobereich in Frage. Des weiteren war die häufige Verstopfung der Kanüle Grund für die Modifizierung des Systems mit Salz. Die Wirkung des Salzes in Form einer erhöhten Leitfähigkeit sorgt für einen sauberen und geradlinigen Jet, welcher Voraussetzung für eine feine und gleichmäßige Faser ist. In Abbildung 21 kommt das modifizierte System zum Tragen. Nicht nur eine gleichmäßigere Faser und ein optimierter Spinnprozess sind Vorteile des neuen Systems,

auch die Stabilität des Vlieses konnte verbessert werden. Die erhöhte Stabilität machte sich vor allem beim Lösen der Fasern von ihrem Trägermaterial Alufolie bemerkbar.

Diskussion des Vergleichs der unterschiedlichen Nanofasern

Hinsichtlich der Pheromonabgaberate konnten zwischen den zwei Vliesvarianten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, Tag 1 (Abb.16) ausgenommen. Der signifikante Unterschied am 1. Tag ist eventuell mit den Faserverdickungen zu begründen (Abb.21), die aufgrund ihrer erhöhten Füllmenge von Polymerlösung, im Vergleich zu den Fasern mit normalen Durchmesser (Abb.22), im Stande sind, mehr Pheromon abzugeben.

6. Fazit

Grundlage für eine erfolgreiche Regulierung des wichtigsten Maisschädlings *Diabrotica* v.v. mit Hilfe der Verwirrungsmethode über Sexuallockstoffe mit dem Trägermaterial Nanofaser, ist es die Ansprüche einer mechanischen Ausbringung in Erfahrung zu bringen und zu bewältigen. Der letztmögliche Termin zur Ausbringung der Fasern mit normaler Gerätechnik ist während des Reifestadiums BBCH 32-34, wenn der Mais eine Wuchshöhe von ca. 50 cm erreicht hat. Zeitlich liegt dieser Termin zwischen Ende Juni und Mitte Juli. Zeitgleich beginnt die Flugperiode des Käfers. In Folge dessen muss die Pheromonabgabe direkt nach Ausbringung der Nanofasern starten und im Optimalfall konstant 12 Wochen bis zur Ernte des Mais Ende September anhalten. Zu berücksichtigen sind bei allen zeitlichen Angaben Faktoren wie Wind, Sonnenscheindauer, Niederschlagsmenge und Bodeneigenschaften, die sowohl den zeitlichen Flugzyklus des Käfers als auch den Zeitpunkt der Reifestadien des Maises beeinflussen.

Diese erstmalige Untersuchung zum Pheromonabgabeverhalten von Nanofasern, gesponnen mit dem System Polymerlösung (Ecoflex®), Lösungsmittel (DCM), Salz (Benzyltriethylammonium chloride) und Pheromon 8-Methyl-decan-2-yl-Propionat (*Diabrotica* v. *virgifera*) steckt in vielen Bereichen in den Anfängen und zeigt Raum zur weiteren Forschung.

Dennoch konnten bereits erste positive Ergebnisse festgehalten werden. Das mit Salz modifizierte Vlies ist aufgrund eines verbesserten Spinnprozesses, gleichmäßigeren Fasern und seiner erhöhten Stabilität dem System ohne Salz vorzuziehen. Hinsichtlich der Verwirrung von *Diabrotica v. virgifera* mit dem synthetisierten Pheromon 8-Methyldecan-2-yl-Propionat kann angemerkt werden, dass eine eindeutige Pheromonabgabe der Nanofasern stattfindet. Im Abgabeverhalten konnte, bis auf die erhöhte Abgabe der Faser ohne Salz zu Beginn, kein Unterschied der beiden Vliese festgestellt werden, der die Bevorzugung eines der beiden Vliese gerechtfertigt hätte. Allgemein fällt der Abgabezeitraum, der in dieser Untersuchung ca. 3 Tage andauert, weit hinter den angestrebten Abgabezeitraum zurück, der über die komplette 12-wöchige Flugperiode des Käfers anhalten sollte.

Gleichwohl ist zu berücksichtigen, dass dieses erstmalig gesponnene System eine stabile Faser produziert, die zudem Pheromon abgibt. Demnach besteht die begründete Erwartung, mittels weiterer Optimierungen der Fasereigenschaft im Bezug auf Pheromonabgabe eine zukünftig erfolgreiche Verwirrung des Westlichen Maiswurzelbohrers zu gewährleisten.

7. Ausblick

Der angestrebte Pheromonabgabezeitraum erstreckt sich über die gesamte, mindestens 12-wöchige Flugperiode von *Diabrotica virgifera virgifera*. Der künftige Forschungsschwerpunkt liegt folglich in der zeitlichen Verlängerung der Pheromonabgabe der Faser. Um den 12-wöchigen Pheromonabgabezeitraum der Faser zu decken, könnte alternativ eine zweite Applikation der Fasern im Maisfeld erfolgen. Der dazu erforderliche Stelzenschlepper (Abb.23), eine Spezialmaschine mit großer Unterbodenfreiheit, ermöglicht jedoch lediglich die Befahrung des Maises bis zu einer Wuchshöhe von ca. 2 m (BBCH-Stadium 69) (s. Kap. 3, Abb.5). Ab diesem Zeitpunkt verbleiben von der 12-wöchigen Flugaktivität von *Diabrotica v. virgifera* jedoch noch 8 Wochen. Daher müssten die dann mechanisiert

ausgebrachten Dispenser eine ebenso lange Wirkungsdauer besitzen.



Abb. 23: Stelzenschlepper der Marke Dammann-trac DT 2000H Plus „Highlander“ mit einer Unterbodenfreiheit von ca. 2 m;⁹

Jede Applikation verursacht jedoch zusätzliche Kosten. Um im Optimalfall die Faser nur einmalig ausbringen zu müssen, ist die Modifizierung der Faser selbst unabdingbar. Durch das Verspinnen verschieden zusammengesetzter Polymerlösungen und nachfolgender Untersuchung der daraus resultierenden Vliese wird versucht, ein System mit verlängerter Pheromonabgaberate zu erhalten. Eine an der Universität Gießen vorhandene Elektrospinnanlage würde die Forschung zur Optimierung des Systems bzw. der Einstellung verschiedenster Parameter für eine verlängerte Pheromonabgaberate hochgradig beschleunigen.

8. Zusammenfassung

Die Arbeitsgruppe des biotechnischen Pflanzenschutzes der JLU-Giessen beschäftigt sich bereits seit 1987 mit der Schädlingsregulierung mittels der Insekten-Verwirrungsmethode. Bei diesem Verfahren werden naturidentische Sexuallockstoffe eingesetzt, die das Männchen auf der Suche nach dem Weibchen irre leiten, die Paarung stören und somit das Schadinsekt in seiner Anzahl regulieren. Erfolgreich kommt die Verwirrungsmethode im Weinbau gegen den Einbindigen und Bekreuzten Trauben-

⁹ http://www.dammann-technik.de/html/marketing___bilder.html

wickler zum Einsatz. In dieser Arbeit wird untersucht, welche Anforderungen das Verfahren für eine künftige Anwendung gegen *Diabrotica virgifera virgifera*, dem wichtigsten Maisschädling, stellt. Die manuelle Ausbringung, wie im Weinbau, ist aufgrund der weitaus größeren Maisfelder nicht kostendeckend und müsste durch ein Mechanisierungsverfahren ersetzt werden. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Untersuchung des angedachten Trägermaterials, eine organisch abbaubare Nanofaser, gesponnen aus dem System Polymer, Lösungsmittel und Pheromon, auf ihr Pheromonabgabevermögen. Die Pheromonabgaberate von einer *mit* und einer *ohne* Zusatz des Salzes Benzyltriethylammoniumchlorid gesponnenen Faser wird verglichen. Zur Bestimmung der Pheromonabgaberate wurde ein Windkanalversuch mit anschließender Wägung durchgeführt, sowie eine CLSA-Analyse und deren Auswertung mit einem Gaschromatographen. Mit Hilfe der Berechnung einer Nachweis- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen wurde die Aussagekraft der ermittelten Daten sicher gestellt. Mit handelsüblicher Gerätetechnik ausgebrachte Dispenser mussten über 12 Wochen Pheromon abgeben, um eine erfolgreiche Regulierung des Schadinsekts *Diabrotica v. virgifera* mittels Verwirrungsmethode zu gewährleisten. Anhand der untersuchten Nanofasern konnte eine eindeutige Abgabe des *Diabrotica*-Pheromons über den Zeitraum von 3 Tagen nachgewiesen werden. Beim Vergleich der unterschiedlichen Nanofaservliese wurde nur hinsichtlich der Spinnbarkeit ein Vorteil der mit Salz gesponnenen Faser festgestellt. Folglich ist das mit Salz gesponnene System für die weitere Forschung zu bevorzugen, wobei eine Modifizierung zur Verlängerung des Pheromonabgabezeitraums dringend notwendig ist.

Literaturverzeichnis

- ALBERT, R., HARMUTH, P. & IMGRABEN H. (2004): Pflanzenschutzdienst Baden-Württemberg, Merkblatt 04: Der westliche Maiswurzelbohrer (*Diabrotica virgifera virgifera*, LeConte), ein gefährlicher Maisschädling, eingesehen im November 2010, online verfügbar unter:
http://www.biosicherheit.de/pdf/aktuell/Diabrotica_Merkblatt04.pdf
- BABSON, A.L. (1963): Eradicating the gypsy moth. *Science* **142**, 447–8.
- BASF (2008). Sicherheitsdatenblatt zum Produkt RAK® 1+2 SD.
http://www.agrar.basf.de/de/deploy/media/de/productfiles/safety_data_sheet/RAK1_2SD_080128.pdf
- BAUFELD, P., UNGER, J.G. & HEIMBACH, U. (2006): Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA), eingesehen im August 2010, online verfügbar unter:
http://www.bba.bund.de/cln_044/nn_805044/DE/veroeff/popwiss/pdfs/diabrotica.html
- BERTOSSA, M., SCHAUB, L. & COLOMBI, L. (2009): Die gute alte Fruchtfolge als Bekämpfungsmethode gegen den Maiswurzelbohrer (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte), Band 1 des Tagungsbandes der 10. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau (2009), online verfügbar unter:
http://orgprints.org/14414/1/Bertossa_14414.pdf
- BMELV (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) (Hrsg.) (2010). Pflanzenschutzmittelverzeichnis 2010 – Teil 3: Weinbau. 58. Auflage 2010. ISSN 0178–0611.
http://www.bvl.bund.de/cln_027/DE/04_Pflanzenschutzmittel/00_docs_downloads/psm_verz_3,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/psm_verz_3.pdf
- BOLAND, W., NEY, P., JAENICKE, L. & GASSMANN, L. (1984): A "closed-loop-stripping" - technique as a versatile tool for metabolic studies of volatiles. In P. Schreier (Hrsg.): *Analysis of volatiles*. Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York 1984, 371-380

- BREUER, M. & WEGNER-KISS, G. (2007). Erfahrungen mit Isonet LE und Lplus. Der Badische Winzer, Januar 2007: 24-26.
- BRINKERT, T. (2005): Grundlagen der Gaschromatographie (GC) Abschlussarbeit der Physiklaborantenausbildung im Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie (ISAS) Dortmund, online verfügbar unter:
www.semibyte.de/dokuwiki/_media/nat:chemie:grundlagen_der_gaschromatographie.pdf?id=nat:chemie&cache=cache
- BROWNLEE, R.G. & SILVERSTEIN, R.M. (1968): A micropreparative gaschromatograph and a modified carbon skeleton determinator. Anal.Chem. **49**: 2077-2079.
- BUTENANDT, A., BECKMANN, R., STAMM, D. & HECKER, E. (1959):Über den Sexuallockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. Zeitschrift für Naturforschung **14**:283-284.
- CIOSI, M., MILLER N.J., KIM K.S., GIORDANO R., ESTOUP, A. & GUILLEMAUD, T. (2008): Invasion of Europe by the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*: multiple transatlantic introductions with various reductions of genetic diversity. Molecular Ecology **17**, 3614-3627.
- COOLEY, J.F. (1902): Apparatus for electrically Dispensering Fluids. US, Patent 692,631.
- DEGENHARDT, J. (2010): Universität Halle-Wittenberg, Frankfurter Rundschau Nr.91, Pflanzen bekämpfen Schädlinge mit Duftstoff, Ausgabe vom 20.April 2010 S.13
- DER SONNTAG in Freiburg (2010): Erneutes Auftreten des Maisschädlings, Ausgabe vom 1.August 2010, S.2
- DMK, Deutsches Maiskomitee e.V.: Bedeutung des Maisanbaues weltweit, eingesehen im Juli 2010, online verfügbar unter:
www.maisberatung.de/web/public/Fakten.aspx/Statistik/Welt
- GASTON, LK., SHOREY, H.H & SAARIO, S.A. (1967): Insect population control by the use of sex pheromones to inhibit orientation between the sexes. Nature **213**: 1155

- GASTON, L.K., KAAE, R.S., SHOREY H.H. & SELLERS, D. (1977). Controlling the pink bollworm by disrupting sex pheromone communication between adult moths. *Science* **196**: 904-905.
- GEIGER, F., BENGTSSON, J., BERENDSE, F., WEISSER, W.W., EMMERSON, M., MORALES, M.B., CERYNGIER, P., LIIRA, J., TSCHARNTKE, T., WINQVIST, C., EGGERS, S., BOMMARCO, R., PÄRT, T., BRETAGNOLLE, T., PLANTEGENEST, M., CLEMENT, L.W., DENNIS, C.H., PALMER, C., ONATE, J.J., GUERRERO, I., HAWRO, V., AAVIK, T., THIES, C., FLOHRE, A., HÄNKE, S., FISCHER, C.H., GOEDHART, P.W., INCHAUSTI, P. (2010). Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology* **11**: 97-105.
<http://www.sofnet.org/apps/file.asp?Path=1&ID=6060&File=Geiger+et+al+2010+BAAE+online.pdf>
- GREINER, A. & WENDORFF, J.H. (2007): Elektrosinnen: eine faszinierende Methode zur Präparation ultradünner Fasern. *Angew. Chem.* **119**:5770–5805.
- GROB, K. & ZÜRCHER, F. (1973): Organic substances in potable water and in its precursor, Part I: Methods for their determination by gas-liquid chromatography, *Journal of Chromatography* **84**: 255-273.
- HARDIE, J. & MINKS, A.L. (Eds.), (1999): *Pheromones of Non-Lepidopteran Insects Associated with Agricultural Plants*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- HARMUTH, P. (2008): Der Westliche Maiswurzelbohrer (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte) ist in Baden-Württemberg angekommen, eingesehen im Dezember 2010, online verfügbar unter:
http://www.landwirtschaft-mlr.baden-wuerttemberg.de/servlet/PB/show/1222393/landinfo_Der%20Westliche%20Maiswurzelbohrer%20%28Diabrotica%20virgifera%20virgifera%20Le%20Conte%29%20ist%20in%20Baden-W%20FCrttemberg%20angekommen%20%28Peter%20Harmuth%29.pdf

- HEIN, D.F., LEITHOLD, G., HUMMEL, H.E., VILCINSKAS, A., GREINER, A., WENDORFF, J.H., DERSCH, R., HELLMANN, C., BREUER, M., BEER, H., SCHROER, S., KRATT, A., KLEEBERG, H., SCHULZE, C. & WAHL, F. (2009): Nanofasern als neuartige Träger für flüchtige Signalstoffe zur biotechnischen Regulierung von Schadinsekten im integrierten und ökologischen Landbau. Band 1 des Tagungsbandes der 10. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau eingesehen im September 2010, online verfügbar unter: http://orgprints.org/14105/1/Hein_14105.pdf
- HELLMANN, C., GREINER, A. & WENDORFF, H.J. (2009): Design of pheromone releasing nanofibers for plant protection, (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/pat.1532 Published online in Wiley InterScience: 2009
- HEYLAND, K.U. (1996): Spezieller Pflanzenbau, Stuttgart, Ulmer, ISBN 3-8001-1080-6
- HOFFMANN, G. M. & SCHMUTTERER, H. (1999): Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen S.271, Stuttgart, Ulmer, ISBN 3-8001-3207-9
- HOWSE, P., STEVENS, I. & JONES, O. (1998): Insect pheromones and their use in pest management. Chapman & Hall, London, eingesehen im August 2010, online verfügbar unter: <http://www.springerlink.com/content/t05312n4x446w0j2/fulltext.pdf>
- HUMMEL, H.E. (1983). Insecticides and their design. J. Nematol. **15**(4): 615-639.
- HUMMEL, H.E. (2003): Introduction of *Diabrotica virgifera virgifera* into the old world and its consequences: a recently acquired invasive alien pest species on *Zea mays* from North America. Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University **68**(4a): 45–57.
- HUMMEL, H.E., SHAW J.T. & HEIN D.F. (2006): A promising biotechnical approach to pest management of the Western Corn Root Worm in Illinois maize fields shielded with a MCA kairomone baited trap line. Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent. **15**:131–135.
- JACOBSON, M. & BEROZA, M. (1963): Chemical insect attractants. Science **140**: 1367-1373

- JKI: JULIUS KÜHN-INSTITUT, (2004): Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, "Leitlinie zur Durchführung von amtlichen Maßnahmen gegen *Diabrotica virgifera* LeConte", BBA-AG2004/06 Seite 1-9
- KARLSON, P. & LÜSCHER, M. (1959): Pheromones: a New Term for a Class of Biologically Active Substances, *Nature* **183**: 55 - 56; doi:10.1038/183055a0
- KOSTER, P. (2010): Information zum maschinellen Bearbeitungszeitraum auf Anfrage beim Deutschen Maiskomitee e.V.
- KOWAL, S., BALSAA, P., WERRES, F. & SCHMIDT, T.C. (2009). Determination of the polar pesticide degradation product N,N-dimethylsulfamide in aqueous matrices by UPLC–MS/MS. *Anal Bioanal Chem* **395**: 1787-1794. <http://www.springerlink.com/content/nlg4x51088x2v164/fulltext.pdf>
- KRYSAN, J.L. & SMITH, R., (1987): Systematics of the *virgifera* speciesgroup of *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae), *Entomography*, **5**: 375 – 484 .
- LAHR, J. Bachelorarbeit, (2010): Funktionsüberwachung von Traubenwickler-Verwirrungsdispensern im biologisch-technischen Pflanzenschutz, JLU Giessen, S.40
URL: <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2010/7754/>
- LANGE, E. (2002). Erfahrungen mit der Pheromon–Verwirrung und dem Attract+Kill–Verfahren in der Obstregion Bodensee. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land– Forstwirtsch.* **389**: 76–77.
- LFL Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft -Institut für Pflanzenschutz, (2010): Westlicher Maiswurzelbohrer: Fänge in Bayern 2010, eingesehen im August 2010, online verfügbar unter: http://www.lfl.bayern.de/ips/pflanzengesundheit/27664/linkurl_0_135.pdf
- LINDNER, I., Masterarbeit, (2009): Analytische Laboruntersuchungen zum Freisetzungverhalten von Sexualduftstoffen der beiden Traubenwicklerarten *Lobesia botrana* und *Eupoecilia ambiguella* auselektrogesponnenen Nanofasern S.4, S.105
URL: <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2010/7685/>

- LWK NRW, Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, (2010):
 Aktuelle Situation: Maiswurzelbohrer in Köln-Wahn, eingesehen
 November 2010, online verfügbar unter:
<http://www.landwirtschaftskammer.de/landwirtschaft/pflanzenschutz/psd/mwb-koeln.htm>
- MARESCH, K. (2008): Schaubienenstand Honighaeuschen, *Bienensterben*
 2008 IMMENHONIG IMKERKARTE HONIGSUCHE, eingesehen im
 Dezember 2010, online verfügbar unter:
<http://www.immenhonig.de/72.1.html>
- MAYER, J., ALFÖLDI, T., LEIBER, F., DUBOIS, D., FRIED, P., HECKEN-
 DORN, F., HILLMANN, E., KLOCKE, P., LÜSCHER, A., RIEDEL,
 S., STOLZE, M., STRASSER, F., VAN DER HEIJDEN, M. & WILLER,
 H. (Hrsg.) (2009): Band 1 des Tagungsbandes der 10.
 Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau,
 eingesehen im August 2010, online verfügbar unter:
http://orgprints.org/view/projects/int_conf_2009_wita.html
- MERTENS, M., (2006): Gen-ethisches Zentrum, Bt-Mais wirkt auch am Ziel
 vorbei, eingesehen im August 2010, online verfügbar unter:
http://www.gen-ethisches-netzwerk.de/files/0608mmertens_Bt_GI-D177ref.pdf
- MINKS, A.K. (1997). Mating Disruption of the Codling Moth. pp. 372–376. In:
 Cardé RT, Minks AK (eds.). Insect pheromone research: new
 directions. Chapman & Hall, New York. ISBN 0–412–99611–1.
- MLADEK, C., VOEMEL, R., (2010): GC für Neueinsteiger, für
 Novia, Chromatographie- und Messverfahren GmbH,
 ChemConsult, Ingelheim, eingesehen im September 2010, online
 verfügbar unter:
http://www.novia.de/docs/GC_fuer_Neueinsteiger.pdf
- MPG MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT, (2005): Unterirdische Lockmittel für
 nützliche Nematoden PRI B 26 / 2005 (52), eingesehen im Oktober
 2010, Pdf online verfügbar unter:
<http://www.mpg.de/bilderBerichteDokumente/dokumentation/pressemitteilungen/2005/pressemitteilung200503235/genPDF.pdf>

- OIV Internationale Organisation für Rebe und Wein, (2010): Situation und Statistik des Weinbausektors weltweit 2009, eingesehen im November 2010, online verfügbar unter:
<http://www.oiv.int/de/accueil/index.php>
- Pflanzenschutzdienst Baden-Württemberg (2004): Merkblatt: Der westliche Maiswurzelbohrer, ein gefährlicher Maisschädling, bearbeitet von: Dr. R. Albert, Dr. P. Harmuth, Dipl. Ing. agr.-biol. H. Imgraben, online:
<http://www.lfp.bwl.de>
- PEDIGO, L.P. & RICE, M.E. (2009). Entomology and pest management – 6th edition. Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, New Jersey.
- SANDERS, C.J. (1995): Mechanisms of mating disruption in moths. pp. 333-346. In: Carde, R.T. & Minks, A.K. (eds.): Insect pheromone research: new directions. Chapman & Hall, New York.
- SHOREY, H.H. & McKELVEY, Jr., eds. (1977): Chemical control of insect behavior. Theory and Application, Wiley-Interscience, New York, ISBN 0-471-78840-6
- WAGNER, S. & ZELLNER, M., (2010): Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft-Institut für Pflanzenschutz, Biologie und Populationsdynamik eingesehen im August 2010. online verfügbar unter:
<http://diabrotica.jki.bund.de/index.php?menuid=19>
- WEBER, E. & WEBER, R., (1992): Buch der Umweltanalytik, Band 4, Methoden und Applikationen in der Kapillarchromatographie; GIT, Verlag GmbH, Darmstadt
- WITZGALL, P. & SCHLYTER, F.,(2005): Pheromonpräparate, pp. 203-235. In H. Schmutterer & J. Huber [eds.], Natürliche Schädlingsbekämpfungsmittel. Ulmer, Stuttgart
- WRIGHT, R.H. (1964a): After pesticides-what? *Nature* **204**:121-125
- WRIGHT, R.H. (1964b): Insect control by nontoxic means. *Science* **144**: 487
- WRIGHT, R.H. (1965): Metarchons: Insect control through recognition signals. *Bull. Atomic Sci.* **21**: 28-30
- YAMAMOTO, A. & OGAWA K., (1989): Chemistry and commercial production of pheromones and other behaviour-modifying chemicals, in: Insect pheromones in plant protection, Jutsum AR, Gordon RFS (eds.), pp.123-148. John Wiley, London

ZELLNER, M. (2008): Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Auftreten des Westlichen Maiswurzelbohrers in Bayern, eingesehn im Dezember 2010: online verfügbar unter:
http://www.lfl.bayern.de/ipz/pflanzenbauforschung/32936/votr_05_zellner.pdf

Danksagung

Vielen Dank an:

Herrn Prof. Dr. Leithold, dass ich meine Bachelorarbeit am Institut für Organischen Landbau anfertigen durfte.

Meine Arbeitsgruppe des „Biotechnischen Pflanzenschutzes“, bestehend aus Herrn Dr. Hein, Herrn Prof. Dr. Hummel und Frau Lindner, die mich während meiner Arbeit anleiteten, förderten und unterstützten.

Frau Heidrun Vedder vom AWA-Institut, Gesellschaft für angewandte Wasserchemie mbH in Pelm, für die Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze.

Herrn P. Koster vom Deutschen Maiskomitee für die wichtigen Informationen zur maschinellen Bearbeitung eines Maisfeldes.

Meine Eltern, die mich in all meinen Entscheidungen unterstützt haben.

Erklärung

Ich erkläre hiermit ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Alle Gedanken die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommen wurden sind als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit wurde bisher weder einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt noch veröffentlicht.

-

Gießen, den

Moritz Schmidt